

**EINFLUSS VON NITROGLYZERIN UND ATOSIBAN AUF DEN
PLAZENTAMETABOLISMUS UND IHR PLAZENTARER ÜBERTRITT
IN DER DOPPELSEITIGEN IN VITRO PERFUSION HUMANER
PLAZENTAKOTYLEDONE**

Dissertation

zur Erlangung des
akademischen Grades

doctor medicinae

(Dr. med.)

vorgelegt dem
Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Anne Egbe
geboren am 17.09.1975 in Weimar

Gutachter

1. Prof. Dr. H.-J. Seewald, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Abt. Geburtshilfe, FSU Jena
2. PD Dr. Marion Hippus, Institut für Klinische Pharmakologie, FSU Jena
3. PD Dr. Ernst Beinder, Universitätsspital Zürich, Dept. Frauenheilkunde, Klinik für Geburtshilfe

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.07.2003

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------------|--|
| Atosi | Atosibanperfusionen |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| β -HCG | Humanes Choriongonadotropin (β -Untereinheit) |
| cGMP | zyklischens Guanosinmonophosphat |
| eNOS | endotheliale NO-Synthase |
| EPH-Gestose | Edema, Proteinuria, Hypertension-Gestose |
| GTN | Nitroglyzerin (Glyzeroltrinitrat) |
| IL-1 α | Interleukin - 1 α |
| INF- γ | Interferon – γ |
| iNOS | induzierbare NO-Synthase |
| IP ₃ | Inositoltriphosphat |
| L-NAME | N-Nitro-Argininmethylester |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| Leer | Leerperfusion |
| Nitro | Nitroglyzerinperfusionen |
| NMMA | N-Monomethyl-L-Arginin |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| NOS | NO-Synthase |
| nNOS | neuronale NO-Synthase |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor α |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Abkürzungsverzeichnis | III |
| Inhaltsverzeichnis | IV |
| Zusammenfassung | 1 |
| 1. Einleitung | 3 |
| 1.1. Nitroglyzerin | 5 |
| 1.2. Atosiban | 8 |
| 1.3. Aufbau und Funktion der Plazenta | 11 |
| 1.4. Plazenta und Tokolytika | 13 |
| 1.5. Aufgabenstellung | 14 |
| 2. Material und Methoden | 15 |
| 2.1. Anordnung der Versuche | 15 |
| 2.1.1. Präparation des Kotyledons und Versuchsaufbau | 15 |
| 2.1.2. Aufbau und Prinzip des Perfusionsmodells | 16 |
| 2.1.3. Zusammensetzung der Perfusionslösung | 18 |
| 2.1.4. Zeitlicher Ablauf der Versuche | 20 |
| 2.2. Qualitätskriterien der Perfusion | 20 |
| 2.3. Analytische Methoden | 23 |
| 2.3.1. Antipyrinbestimmung | 23 |
| 2.3.2. Kreatininbestimmung | 24 |
| 2.3.3. Glukosebestimmung | 24 |
| 2.3.4. Laktatbestimmung | 24 |
| 2.3.5. Bestimmung des Humanen Choriongonadotropin | 25 |
| 2.3.6. Blutgasanalyse | 25 |
| 2.3.7. Nitroglyzerinbestimmung | 26 |
| 2.3.8. Atosibanbestimmung | 27 |
| 3. Datenanalyse | 28 |
| 3.1. Darstellung der Ergebnisse | 28 |
| 3.2. Statistische Bewertung | 28 |
| 4. Ergebnisse der Perfusionen | 29 |
| 4.1. Ergebnisse der Leerperfusionen | 29 |
| 4.2. Ergebnisse der Experimentalperfusionen | 29 |
| 4.2.1. Antipyrin | 29 |

| | |
|--|----|
| 4.2.2. Kreatinin | 31 |
| 4.2.3. Glukose | 32 |
| 4.2.4. Laktat | 33 |
| 4.2.5. Humanes Choriongonadotropin | 35 |
| 4.2.6. Sauerstoffverbrauch | 36 |
| 4.2.7. Sauerstofftransfer | 38 |
| 4.2.8. Nitroglyzerinhalt und –transfer | 39 |
| 4.2.9. Atosibangehalt und –transfer | 40 |
| 4.2.10. Perfusionsdruck | 42 |
| 5. Diskussion | 45 |
| Literaturverzeichnis | 54 |
| Anhang | 64 |
| Danksagung | 72 |
| Lebenslauf | 73 |
| Eidesstattliche Erklärung | 74 |
| Veröffentlichungen | 75 |

Zusammenfassung

In den letzten Jahren wurden neue tokolytische Pharmaka wie der Oxytocinantagonist Atosiban und der NO-Donor Nitroglyzerin für die Therapie der vorzeitigen Wehentätigkeit eingeführt. Die bisher verwendeten β -Mimetika wie Fenoterol wurden häufig mit Kalziumantagonisten (Verapamil) kombiniert, um die kardialen Nebenwirkungen zu verringern. Seit einigen Jahren wird in klinischen Studien die transdermale Nitroglyzerinapplikation erfolversprechend untersucht [Lees et al., 1999; Schleußner et al., 2000]. Aber auch Atosiban, welches als Antagonist an den Oxytocinrezeptoren im Uterusmuskel spezifisch in den physiologischen Ablauf der vorzeitig induzierten Wehentätigkeit eingreift, zeigte eine hohe tokolytische Wirkung [Moutquin et al., 2000; Romero et al., 2000]. Sowohl Atosiban, als auch Nitroglyzerin zeigten in der klinischen Anwendung geringere Nebenwirkungen als die β -Mimetika.

Bisher ist nur wenig bekannt über den plazentaren Transfer der beiden Pharmaka. David et al. (2000) konnten als einzige in einer in vivo Studie einen raschen Übertritt in den Feten und schnellen Abfall der Nitroglyzeringesamtkonzentration zeigen. Für Atosiban hingegen existieren einige tierexperimentelle Studien zur Pharamakokinetik des Tokolytikums [Greig et al., 1993; Nathanielsz et al., 1997]. Lediglich Valenzuela et al. (1995) untersuchten den plazentaren Transfer von Atosiban am Menschen. Über den Einfluss der Medikamente auf den Plazentastoffwechsel ist nichts in der Literatur berichtet wurden.

Daher war es das Anliegen der vorliegenden Arbeit, den Transfer von Atosiban und Nitroglyzerin sowie die Veränderungen der plazentaren Stoffwechselleistungen während der in vitro Perfusion isolierter Plazentakotyledone zu untersuchen.

Dazu wurde die Technik der zweiseitigen in-vitro Perfusion der Plazentakotyledone verwendet, wie sie Schneider und Huch (1985a) beschrieben hatten. Im Anschluss an eine zweistündige Perfusion mit reiner Perfusionslösung folgte eine vier Stunden dauernde Perfusionsperiode bei je zehn Perfusionen mit 2 μ g/ml Nitroglyzerin oder mit 400 ng/ml Atosiban. Das Perfusat setzte sich zusammen aus Earl's Puffer, Zellzuchtmedium NCT-135, Albumin, Heparin, Dextran, Glukose und Amoxicillin. Der maternalen Kreislauf wurde über Glaspilotten mit 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid und das fetale Kompartiment mit 95 % Stickstoff und 5 % Kohlendioxid begast. Im maternalen Kreislauf betrug die Durchflussrate $12 \pm 0,2$ ml/min und im fetalen Kreislauf $6 \pm 0,2$ ml/min. Um die Effekte der Pharmaka beurteilen zu können, wurde der Glukoseverbrauch, die Laktatbildungsrate, die β -HCG

Produktionsrate, der plazentare Sauerstoffverbrauch und –transfer, der fetale arterielle Perfusionsdruck und die Nitroglyzerin- und Atosibankonzentration in beiden Perfusionskreisläufen bestimmt.

Die Bestimmungen der Pharmakakonzentrationen in den Perfusionskompartimenten ergab einen schnellen Transfer des Nitroglyzerins, das nach 90 Minuten eine maximale Konzentration im fetalen Kompartiment und nach 120 Minuten ein Equilibrium der Nitroglyzerinkonzentrationen an der Plazentabarriere erreicht hatte. Der schnelle Transfer des Medikamentes ist ähnlich wie der des Antipyrins und daher flußlimitiert. Zusätzlich findet eine hohe Metabolisierung im plazentaren Gewebe statt, die zu einer deutlichen Absenkung der Nitroglyzeringesamtkonzentration führte.

Der Oxytocinantagonist Atosiban dagegen permeierte nur langsam die Plazentabarriere und erreichte nach vier Stunden kein Equilibrium im materno-fetalen Kreislauf. Am Ende der Perfusionen mit Atosiban gelangten nur 14 % der maternalen Ausgangskonzentration in den fetalen Kreislauf. Das Transferverhalten des Atosibans ist vergleichbar mit dem des hydrophilen Kreatinins und ist membranlimitiert.

Die Untersuchungen ergaben, dass weder Atosiban noch Nitroglyzerin signifikanten Einfluss auf den plazentaren Kohlehydratstoffwechsel während einer vierstündigen Exposition hatten. Ebenso blieb die Sekretion des β -HCG im Vergleich zu den Perfusionen mit reiner Perfusionslösung unbeeinflusst. Im Gegensatz zu Atosiban konnte Nitroglyzerin bei der in-vitro Perfusion den Perfusionsdruck in den fetalen Kreislauf signifikant senken. Gleichzeitig stieg der Sauerstofftransfer ins fetale Kompartiment und korrelierte deutlich mit der Nitroglyzerinkonzentration im Perfusat. Atosiban hingegen hatte keinen Einfluss auf den plazentaren Sauerstoffverbrauch und –transfer.

Auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kann angenommen werden, dass die Anwendung von Nitroglyzerin und Atosiban während der Schwangerschaft keinen nachteiligen Einfluss auf den Plazentametabolismus und daher auch indirekt durch die nutritiven Funktionen der Plazenta auf die Versorgung des ungeborenen Kindes hat. Nitroglyzerin könnte sogar die Sauerstoffversorgung des Feten mittels Gefäßrelaxation im plazentaren Stromgebiet verbessern. Die von uns durchgeführten Experimente bestätigen die sichere Anwendung von Atosiban und Nitroglyzerin in der Schwangerschaft und bekräftigen in der Literatur aufgezeigte Ansätze, Fälle von Präeklampsie und fetaler Retardierung mit Hilfe von Nitroglyzerinapplikation zu behandeln.

1. Einleitung

Eine Hauptursache für perinatale Sterblichkeit in Europa und Nordamerika sind Frühgeburten, deren Anteil zwischen 5-10 % aller Geburten beträgt [Berkowitz und Papernik, 1993]. Mit der Einführung potenter Tokolytika aus der Reihe der β -Sympathomimetika wie Ritodrine und Fenoterol vor mehr als 20 Jahren erhoffte man sich daher eine Senkung der Frühgeburtenrate. Diese Hoffnung kann nach Angaben des Statistischen Bundesamtes nicht bestätigt werden, weil die Inzidenz der Frühgeburten seit 1980 in Deutschland unverändert ist [Rettwitz-Volk, 1996]. Auch andere Studien scheinen den erwarteten Einfluss der β -Sympathomimetika auf die Frühgeburtslichkeit und die perinatale Morbidität und Mortalität nicht bestätigen zu können [Canadian Preterm Labour Investigation Group, 1992]. Sicherlich muss bei Betrachtung dieser Zahlen berücksichtigt werden, dass der Großteil der Frühgeburten nicht allein durch das Leitsymptom der vorzeitigen Wehentätigkeit bedingt ist. Vorzeitiger Blasensprung, induzierte Schwangerschaftsbeendigung wegen fetaler oder maternaler Pathologie und vor allem die steigende Zahl der Mehrlingsschwangerschaften durch vermehrten Einsatz von reproduktiven Maßnahmen bei Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch tragen entscheidend zur Frühgeburtslichkeit bei. Angesichts der vielfach gezeigten klinischen Wirksamkeit der β -Sympathomimetika überrascht es dennoch, dass in plazebokontrollierten Studien nur eine kurzzeitige Schwangerschaftsverlängerung erreicht werden konnte. Diese wenn auch nur wenige Tage betragende Verzögerung der Geburt kann im einzelnen Fall dennoch nützlich sein, da eine Induktion der fetalen Lungenreife mit Glukokortikoiden und gegebenenfalls ein Transport in ein Perinatalzentrum möglich wird [Canadian Preterm Labour Investigation Group, 1992; Rettwitz-Volk, 1996].

Das in Deutschland häufig verwendete Fenoterol weist zum Teil gravierende Nebenwirkungen auf, bedingt durch seinen pharmakodynamischen Angriffspunkt an den ubiquitär vorkommenden β -Rezeptoren. Hierzu gehören vor allem Tachykardie, gesteigertes Herzminutenvolumen und die Gefahr eines Lungenödems. Angesichts der oben genannten Daten und der unerwünschten Arzneimittelwirkungen wird seit einiger Zeit nach Alternativen zur etablierten Tokolyse gesucht.

Man hoffte durch die Verwendung von selektiv in den physiologischen Ablauf der Wehen eingreifenden Tokolytika eine Verbesserung der Langzeittokolyse mit geringerem Nebenwirkungsspektrum zu erreichen. Zwei Medikamente scheinen diesen Anforderungen gerecht zu werden. 1994 wurde erstmals von Lees und Mitarbeitern [Lees et al., 1994] der

erfolgreiche Einsatz von Nitroglycerin zur Wehenhemmung beim Menschen beschrieben. Die Wirksamkeit des 1986 entwickelten Oxytocinantagonisten Atosiban konnte erst kürzlich in mehreren Studien [Moutquin et al., 2000; Romero et al., 2000; Valenzuela, 2000] gezeigt werden. Sowohl beim Nitroglycerin, als auch beim Atosiban konnte eine gleich gute tokolytische Wirksamkeit wie bei den etablierten β -Sympathomimetika nachgewiesen werden. Da jedoch bei ihrer Anwendung deutlich weniger Nebenwirkungen als bei Fenoterol auftraten, stellen sie eine Alternative zur bisherigen Therapie dar. Bisher ist noch wenig über den transplazentaren Transfer von Nitroglycerin und Atosiban mit den damit verbundenen möglichen Wirkungen auf den Feten bekannt. Daher soll es Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein, den Übertritt der Medikamente und deren Anreicherung im fetalen Kompartiment zu bestimmen, sowie deren Einfluss auf den plazentaren Metabolismus zu untersuchen.

1.1. Nitroglycerin

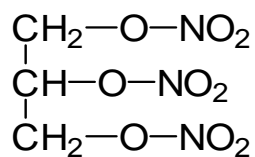


Abbildung 1 chemische Formel des Nitroglycerins

Nitroglycerin ist der Salpetersäureester des Glycerins (siehe Abb. 1) und wird auch Glycerintrinitrat genannt. Enzyme im menschlichen Körper können Stickstoffmonoxid (NO) aus dem Nitroglycerin freisetzen. Das NO ist ein wichtiges humanes Signalmolekül, welches für die bekannten, medizinisch bedeutsamen Wirkungen des Nitroglycerins im Organismus verantwortlich ist. Die Entdeckung des ubiquitär intra- und extrazellulären Mediators NO war von derart herausragender Bedeutung in der Medizin, dass seinen Entdeckern Robert F. Furchtgott, Louis J. Ignarro und Ferid Murad am 10. Dezember 1998 der Nobelpreis verliehen wurde.

Das kurzlebige NO mit einer Halbwertszeit von 10-12 Sekunden entfaltet seine Wirkung als parakrines Produkt des Enzyms NO-Synthase, welche in einer Vielzahl von humanen Geweben lokalisiert werden konnte. Die NO-Synthase (NOS) wandelt die Aminosäure L-Arginin in L-Citrullin unter Freisetzung von NO um. L-Argininanaloga wie N-Monomethyl-

Im kardiovaskulären System trägt die im Endothel konstitutiv vorhandene eNOS wesentlich

Neben der bereits erwähnten eNOS existiert eine neuronale NO-Synthase (nNOS) als eine

Die induzierbare iNOS konnte in Zellen des unspezifischen Immunsystems, im Myometrium,

2000]. Für das Verständnis der physiologischen und pathophysiologischen Funktion der iNOS ist ihre Induzierbarkeit durch Zytokine wie Tumornekrosefaktor α (TNF α), Interleukin-1 α (IL-1 α), Interferon- γ (INF- γ) und dem bakteriellen Endotoxin Lipopolysaccharid (LPS) von Bedeutung [Chwalisz und Garfield, 1998]. Nach einer Induktion produziert diese Isoform 1000fach höhere Mengen an NO als die eNOS und nNOS. In derart hohen Konzentrationen wirkt NO zytotoxisch gegen Parasiten, Bakterien, Viren und bewirkt Apoptose bei Tumorzellen. Aber NO ist nicht nur bei der immunologischen Abwehr von Bedeutung, sondern spielt auch bei zahlreichen physiologischen Vorgängen der weiblichen Reproduktion und in der Schwangerschaft eine zentrale Rolle.

So legen Tschugguel et al. (1999) der Menstruationsblutung der Frau den programmierten Zelltod Apoptose zugrunde, der vermittelt wird durch inflammatorische Zytokine, welche eine iNOS-Expression induzieren und damit die NO Produktion. Aufgrund dieses Mechanismus zeigen Tschugguel und Mitarbeiter Anwendungsmöglichkeiten bei der Behandlung der dysfunktionellen Blutung mittels intrauterin applizierten selektiven iNOS-Antagonisten wie L-NAME oder L-NMMA auf.

Aber auch dysmenorrhoeische Beschwerden, die man auf Uterusspasmen zurückführt, könnten mit NO-Donatoren in Form von transdermaler Glyzerintrinitratapplikation therapiert werden [David, 2000]. Der Wirkmechanismus basiert hier auf der Relaxation der glatten Uterusmuskulatur vermittelt über die Bildung von cGMP, wodurch es zu einem Calciumausstrom aus der Muskelzelle mit nachfolgender Erschlaffung der Muskulatur kommt.

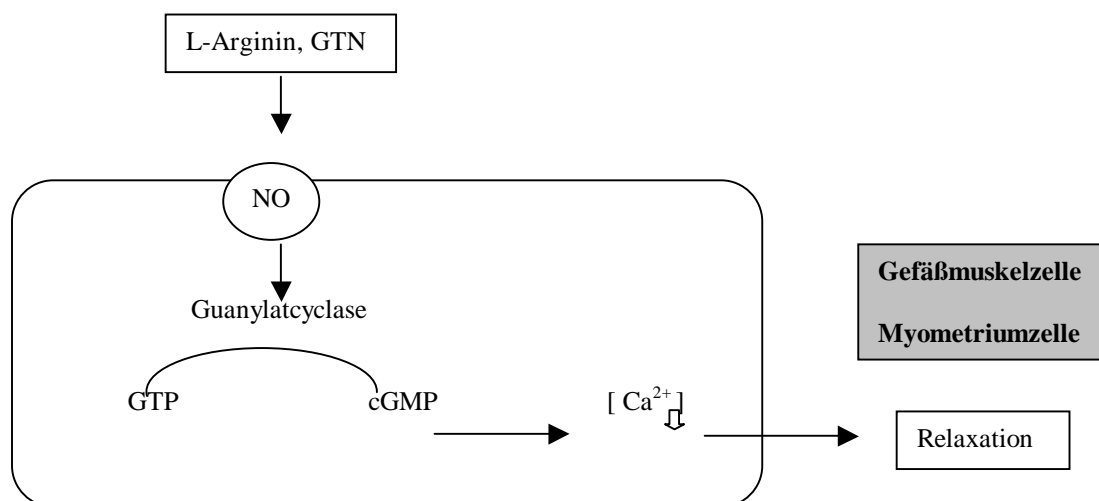


Abbildung 3 intrazelluläre Wirkung des NO; GTN: Glyzerintrinitrat; GTP: Guanosintriphosphat; cGMP: zyklisches Guanosinmonophosphat

Verschiedene Studien [Seligman et al., 1994; Norris et al., 1999] konnten zeigen, dass es nach Applikation von Nitroglyzerin und anderen NO-Donatoren bei Präeklampsie zu einer Abnahme des uteroplazentaren Gefäßwiderstands und zu einer Blutdrucksenkung bei der Mutter kommt. Die Ergebnisse, die auf die Erschlaffung der Gefäßmuskulatur zurückgeführt werden können, eröffnen Möglichkeiten der kurativen Anwendung von NO-Donatoren bei präeklampsischen Schwangerschaften.

Aber auch anderen Kasuistiken aus der Literatur liegt der Mechanismus der Relaxation der Uterusmuskulatur zugrunde: die i.v. Bolusapplikation von Nitroglyzerin führt zu einer Kurzzeittokolyse bei gynäkologischen Operationen, die durch die erfolgreiche kurzzeitige Uterusrelaxation die Kindsentwicklung bei Sectio cesarea [David et al., 1998], Plazentaretention, Inversion uteri und Wendungsoperationen erleichtern [Sladek et al., 1997].

Die Möglichkeit Myometrium in vivo und in vitro [Lees et al., 1994; Norman et al., 1997] zu relaxieren und die Tatsache, dass in Zervix und Uterus iNOS während der Schwangerschaft in bestimmten Konzentrationen in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter nachgewiesen werden konnte, deutet auf die physiologische Funktion des NO als Mediator der uterinen Ruhigstellung und bei der Zervixreifung hin [Chwalisz und Garfield, 1998; Bredt, 1999; Tschugguel et al. 1999; Schleußner et al., 2000]. Diese Entdeckungen eröffnen neue Möglichkeiten zur Langzeittokolyse bei frühzeitiger Wehentätigkeit mit Nitroglyzerin oder auch die Induktion der Zervixreifung durch lokale Applikation bei Reifungsstörungen intra partus.

1994 wurde erstmals von Lees et al. (1994) der erfolgreiche Einsatz von Nitroglyzerin zur Wehenhemmung beim Menschen beschrieben. Seither gibt es mehrere Studien, welche die Wirksamkeit von Nitroglyzerin als Tokolytikum mit den bisher verwendeten β -Mimetika [Lees et al., 1994; Schleußner et al., 1999] und mit Placebo [Smith et al., 1999] vergleichen. Die positiven Ergebnisse dieser Arbeiten und die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten bereiten den Weg zu einer breiten Verwendung von Nitroglyzerin in der Geburtshilfe.

1.2. Atosiban

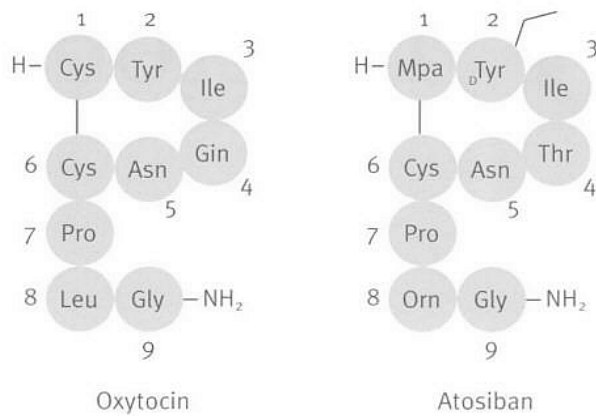


Abbildung 4 Peptidstruktur von Oxytocin und Atosiban, Quelle [Product Monograph Tractocile®, Atosiban]

Atosiban ([1-deamino-2-D-Tyr(Oet)-4-Thr-8-Orn]-Oxytocin) ist ein synthetisches Nonapeptid und Analogon des in der Neurohypophyse produzierten Oxytocin. Es ist an den Positionen 1,2,4 und 8 modifiziert und besitzt aufgrund seiner Struktur analogie zum Oxytocin eine selektive und hohe Affinität zum Oxytocinrezeptor (siehe Abbildungen 4 und 5) [Product Monograph Tractocile®, Atosiban, Ferring].

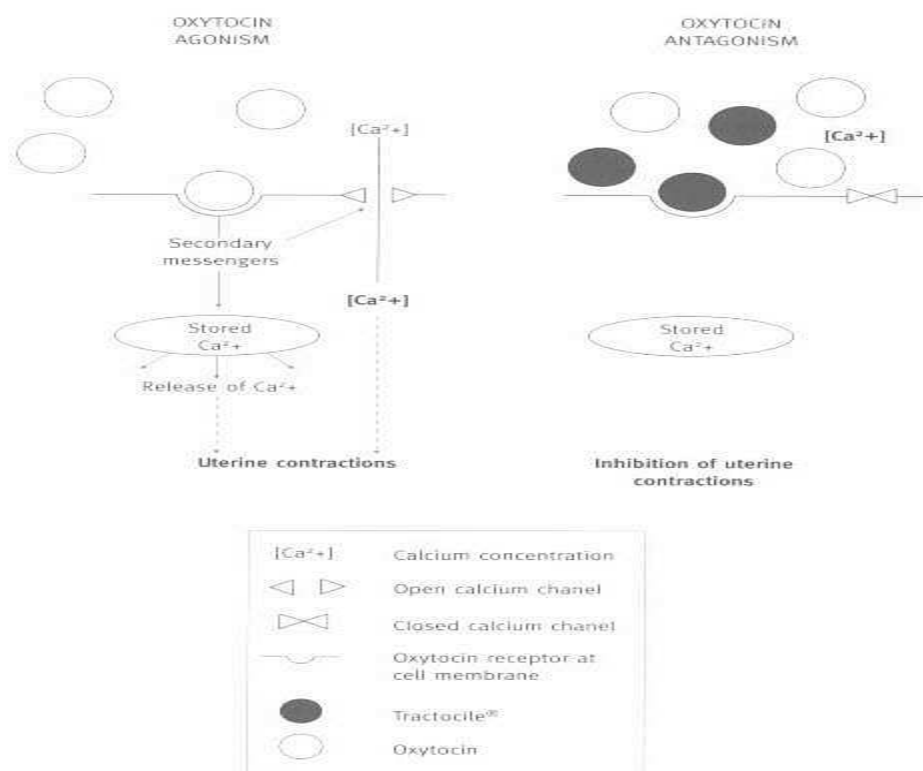


Abbildung 5 Atosiban bewirkt eine kompetitive Hemmung am Oxytocinrezeptor, Quelle [Product Monograph Tractocile®, Atosiban]

An diesem Rezeptor wirkt Atosiban antagonistisch zum Oxytocin, so dass sich seine Wirkung aus der des Oxytocin ableiten lässt.

Das Peptithormon Oxytocin hat auf die Physiologie der Geburt einen direkten Einfluss. Seine Angriffspunkte werden von der Verteilung der Oxytocinrezeptoren bestimmt, die sich im humanen Organismus im Myometrium des Uterus, in der Dezidua der Plazenta, in den fetalen Membranen und im Drüsengewebe der Mammae befinden [Fuchs et al., 1982]. Fuchs et al. (1984) haben eine deutliche Zunahme der Rezeptorkonzentration im Myometrium mit zunehmendem Schwangerschaftsalter gefunden, wobei ein Maximum in der frühen Phase der geburtswirksamen Wehen besteht. Mehrere Studien [Toaff et al., 1978; Bokstrom et al., 1995; Goni et al., 1995] konnten zeigen, dass Oxytocin Uteruskontraktionen in vivo auslösen kann. Aufgrund dieser Ergebnisse kann man auf eine direkte Wirkung des Oxytocin am Myometrium schließen, wobei Oxytocin möglicherweise über eine Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration zur Kontraktion führt (siehe Abb. 6) [Husslein et al., 1981; Melin, 1994]. Dabei spielt nicht nur das pulsatorisch von der mütterlichen Neurohypophyse sezernierte, sondern wahrscheinlich auch fetales Oxytocin bei der Weheninduktion eine Rolle [Dawood et al., 1978].

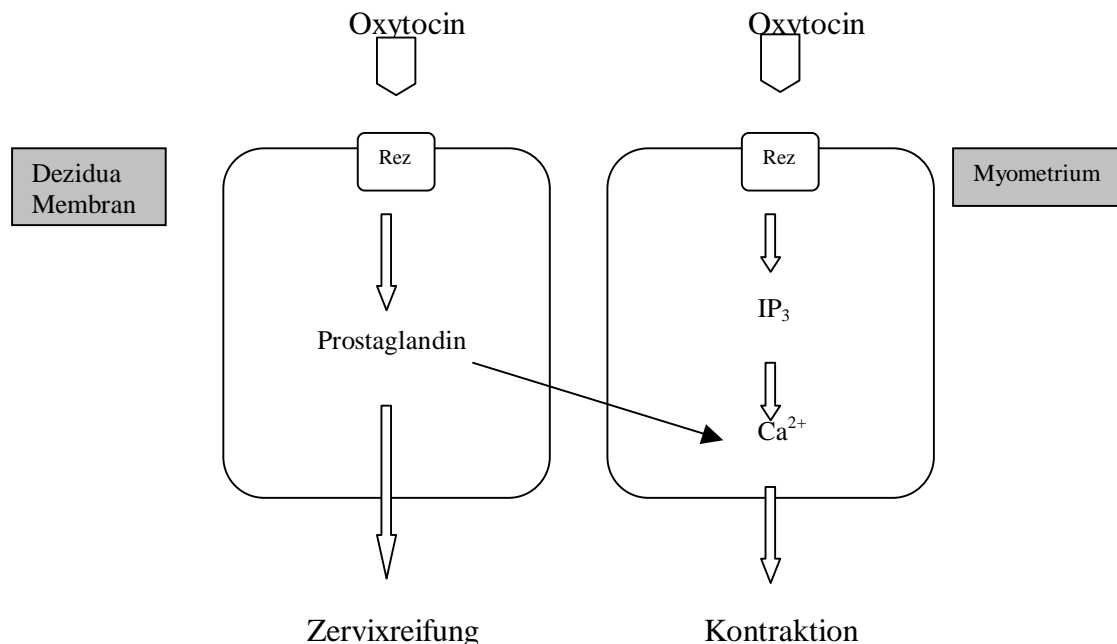


Abbildung 6 Wirkung des Oxytocins an den membranständigen Rezeptoren der Dezidua, der fetalen Membranen und des Myometriums [Melin, 1994; Arias, 2000]; Rez: Rezeptor; IP_3 : Inositoltriphosphat

Neben den direkten Einfluss auf die Myometriumkontraktion führt Oxytocin an den Rezeptoren in der Dezidua und den fetalen Membranen zu einer Erhöhung der Prostaglandinproduktion [Husslein et al., 1981]. Prostaglandin bewirkt an der Zervix eine Reifung und wird in dieser Hinsicht bereits therapeutisch eingesetzt. Es trägt aber auch indirekt zur Myometriumkontraktion bei, indem es das intrazelluläre Calcium in den Myozyten erhöht (siehe Abbildung 6).

Bei Frauen mit vorzeitiger Wehentätigkeit fand man eine erhöhte Oxytocinrezeptordichte im Uterus, die größer war als bei Frauen am Termin ohne Wehen [Fuchs et al., 1984]. Aufgrund der vermehrten Rezeptoren und gestiegenen Sensibilität gegenüber endogenem Oxytocin hoffte man mit einem Rezeptorantagonisten die Kontraktionen beenden zu können.

Bereits 1953 suchten du Vigneaud et al. (1953) nach therapeutisch nutzbaren Oxytocinantagonisten. Erst 1986 fanden Melin und Mitarbeiter [Akerlund et al., 1985; Melin et al., 1986] Atosiban, einen Antagonisten mit hoher Rezeptoraffinität und der Fähigkeit Vasopressin induzierte Uteruskontraktionen bei nicht schwangeren Frauen zu hemmen. Lopéz-Bernal et al. (1989) und Thornton et al. (1993) konnten den Einfluss des Atosiban auf den Wirkmechanismus des Oxytocin zeigen, indem sie eine dosisabhängige Senkung des Inositoltriphosphats und intrazellulären Calcium nachwiesen. Seither wurden eine Reihe klinischer Studien durchgeführt, welche die tokolytische Wirksamkeit und Sicherheit von Atosiban zeigen konnten [Moutqin et al., 2000; Romero et al., 2000; Valenzuela et al., 2000]. Im Vergleich zu den verwendeten β -Mimetika hat Atosiban die gleiche Wirksamkeit bei geringeren Nebenwirkungen. Untersucht wurden vor allem kardiovaskuläre Nebenwirkungen, wie sie bei der Applikation von β -Mimetika auftreten. Es befinden sich jedoch auch Oxytocinrezeptoren in den Mammæ, so dass Atosiban die Milchejektion hemmt wie man in Versuchen an laktierenden Tieren zeigen konnte [Soloff et al., 1989; Wilson et al., 1991]. Bei der Behandlung schwangerer Frauen scheint Atosiban keinen negativen Effekt auf die Laktation post partum zu haben, was auf die Reversibilität der Rezeptorblockade und die relativ kurze Wirkdauer zurückgeführt wird [Melin, 1994].

Aufgrund dieser positiven Ergebnisse und seiner Selektivität kann Atosiban ein vielversprechendes Tokolytikum mit einem geringeren Nebenwirkungsspektrum in der Zukunft werden.

1.3. Aufbau und Funktion der Plazenta

Die reife Plazenta ist ein diskusförmiges Organ von 15-20 cm Durchmesser und 1,5-2,5 cm Dicke. Sie wiegt zwischen 400-600 g. Die fetale Seite der Plazenta, die Chorionplatte, ist glatt und von transparenten spiegelnden Amnion bedeckt, das auch die Nabelschnur überzieht. Die maternale, der Uterusinnenfläche zugewandte Seite – die Dezidua – ist stumpf und durch zahlreiche Furchen in 20-30 verschieden große Areale – die Karunkeln – unterteilt. Jeder Karunkel entspricht einem abgeschlossenen fetalen Zottenbüschel und bildet einen Kotyledon. Die Kotyledonen bestehen aus einem von der Chorionplatte ausgehenden Zottenstamm, das sich baumkronenartig aufzweigt und mit einzelnen Wurzelspitzenästen an der Chorionplatte befestigt ist. Die Mehrzahl der Resorptionszotten flottiert jedoch frei im intervillösen Raum.

Die Plazenta ist als Bestandteil der feto-utero-plazentaren Einheit in der Lage Hormone zu synthetisieren und spielt daher bei der endokrinen Eigenregulation der Schwangerschaft eine wichtige Rolle. Die Steroidhormone Progesteron und Östrogen bildet die Plazenta aus Vorstufen, die zu 90 % von der Mutter und zu 10 % vom Feten stammen. Das Humane Choriongonadotropin und das Humane Plazenta-Laktogen hingegen wird durch de novo Synthese im Synzytiotrophoblast gebildet.

Eine zentrale Rolle spielt die Plazenta beim Stoffaustausch zwischen maternalem und fetalem Kompartiment. Beim transplazentaren Stoffaustausch werden drei Formen unterschieden: die Diffusion, die erleichterte Diffusion und der aktive Transport. Der diaplazentare Austausch der meisten Stoffe erfolgt per diffusionem. Diese passive Stoffbewegung ist nicht mit einem Energieverbrauch verbunden. Die Menge einer pro Zeiteinheit durch Diffusion übertragenen Substanz ist in der Gleichung nach Fick formuliert.

$$\frac{Q}{t} = K \cdot A \cdot \frac{(C_1 - C_2)}{D}$$

$\frac{Q}{t}$ = Menge der diffundierenden Substanz pro Zeiteinheit

K = Diffusionskoeffizient

A = Austauschfläche

$C_1 - C_2$ = Konzentrationsgradient

D = Dicke der Diffusionsmembran

Das Fick'sche Diffusionsgesetz besagt, dass die diffundierende Substanzmenge direkt proportional der Austauschfläche, dem Konzentrationsgefälle, der Kontaktzeit und einer Diffusionskonstanten ist. Die diffundierende Substanzmenge verhält sich umgekehrt proportional zur Diffusionsstrecke durch die Membran. Die Druckdifferenz ist abhängig von der Konzentration des betreffenden Stoffes im maternalen Kompartiment, vom mütterlichen und fetalen Plazentaminutenvolumen, vom Eigenverbrauch des Plazentagewebes und von der Utilisation des fetalen Gewebes. Der Diffusionskoeffizient beschreibt die Diffusionsbedingungen für einen spezifischen Stoff. Er ist abhängig von der Teilchengröße, der Lipidlöslichkeit und der Ionisation des betreffenden Stoffes. Eine diffusible Substanz ist um so leichter plazentagängig, je kleiner das Molekül, je besser ihre Fettlöslichkeit und je geringer die Ionisation ist. Dem passiven Stoffaustausch durch Diffusion unterliegen alle gasförmigen Substanzen einschließlich der Blutgase O_2 und CO_2 , aber auch Fremdgase wie die Inhalationsnarkotika sowie lipophile Medikamente.

Einige biologisch wichtige Stoffe wie Glukose und Laktat passieren die Plazenta durch erleichterte Diffusion. Ihre Diffusionsgeschwindigkeit ist höher als nach dem Fick'schen Gesetz der Diffusion zu erwarten wäre. Diese Beschleunigung des Transfers wird bewirkt durch passagere Bindung an Carrierproteine, die durch Wärmebewegung mit einer größeren Geschwindigkeit zwischen den Grenzflächen oszillieren. Bei der erleichterten Diffusion wird keine zusätzliche Energie benötigt, vielmehr ist auch hier die Menge der pro Zeiteinheit diffundierenden Substanz von der elektrochemischen Differenz an der plazentaren Grenzfläche abhängig.

Hochmolekulare Stoffe und solche, die entgegen einem fetomaternalen Konzentrationsgefälle transportiert werden permeieren die Plazenta durch einen energieverbrauchenden Vorgang, den aktiven Transport. Der aktive Transport ist an die vitale enzymatische Leistung des Trophoblastepithels gebunden. In der Regel werden Proteine, Lipide, Vitamine und andere hochmolekulare Stoffe durch Mikropinozytose in die Zelle aufgenommen und in zytoplasmatischen Vesikeln weiterbefördert.

Der diaplazentare Austausch körperfremder Substanzen wie Medikamente, die im Plasma gelöst sind, ist grundsätzlich möglich und praktisch nicht begrenzt. Die meisten Medikamente werden per diffusionem transportiert. Spezielle Transportmechanismen sind nicht bekannt. Die Permeabilität eines Pharmakons wird entscheidend beeinflusst von seiner Lipidlöslichkeit und dem Grad seiner Dissoziation. Nicht ionisierte schwache Elektrolyte und lipophile Pharmaka permeieren die Plazentamembran schnell. Stark ionisierte Substanzen dagegen

durchdringen die Grenzfläche fast nicht. Die Permeabilität vieler Medikamente liegt zwischen diesen beiden Extremen. Bei jenen Pharmaka besitzt zumindest ein geringer Anteil einen hohen Öl-Wasser-Verteilungskoeffizienten. Die lipophile Fraktion gelangt durch Diffusion aus dem Plasma in die Zytotrophoblastzelle, wodurch das Gleichgewicht zwischen dissoziierter und nichtdissoziierter Form der Substanz gestört wird. Das führt in Abhängigkeit von der spezifischen Dissoziationskonstanten zu einem Nachschub an lipophiler Substanz.

Neben den relativ unbegrenzten Transfer der Medikamente besteht offenbar eine begrenzte Fähigkeit zum Abbau dieser Arzneimittel im Plazentagewebe. Sowohl der oxydative Abbau, als auch die Konjugierung der Pharmaka spielt kaum eine Rolle.

Aufgrund der guten Plazentagängigkeit der meisten Medikamente besteht daher besondere Vorsicht bei der Verordnung während der Schwangerschaft.

1.4. Plazenta und Tokolytika

Die zunehmende Anwendung von Nitroglyzerin und Atosiban in der Schwangerschaft wirft nicht nur Fragen der Verträglichkeit bei der werdenden Mutter auf, sondern lenkt auch das Interesse auf den Feten. Wichtiger Vermittler medikamentöser Wirkungen und Nebenwirkungen auf den Feten stellt die Plazenta dar, deren Barrierefunktion längst nicht mehr hoch eingeschätzt wird. Dabei spielt der diaplazentare Transfer der Medikamente in den fetalen Kreislauf eine entscheidende Rolle. Die Anwesenheit von Nitroglyzerin oder Atosiban kann aber auch metabolische und biochemische Vorgänge im Plazentagewebe beeinflussen und auf diese Weise indirekt Auswirkungen auf die Versorgung des Feten haben. Für den breiten und sicheren Einsatz von Nitroglyzerin und Atosiban in der Klinik sind Studien notwendig, die Aussagen treffen können über die Veränderungen der Stoffwechsel- und Transferleistungen der Plazenta während der Anwendung der beiden Tokolytika.

Hierzu findet man in der Literatur in vivo Studien zum diaplazentaren Transfer von Atosiban [Valenzuela et al., 1995] und Nitroglyzerin [David et al., 2000] an schwangeren Frauen, die sich einer Sectio cesarea unterzogen. Eriksson et al. (1990) untersuchten die Wirkung von Atosiban auf den Lipid- und Kohlehydratstoffwechsel in gesunden Frauen und Männern sowie an Adipozyten, nicht jedoch an Plazentagewebe. Verschiedene Arbeiten [Nöschel et al., 1982; Reiber et al., 1984] beschrieben die gefäßerweiternden Effekte des Nitroglyzerins in den fetoplazentaren Gefäßen, wobei sie sich des Plazentaperfusionsmodells bedienten.

Zwei weitere Arbeitsgruppen untersuchten Nitroglyzerin- und Atosibantransfer, sowie metabolische Effekte an chronisch instrumentierten schwangeren Schafen [Greig et al., 1993; Bootstaylor et al., 1997]. Die Beurteilung der Plazentafunktion im Menschen ist jedoch deshalb schwierig, da das Organ für in vivo Untersuchungen nur mit hohem technischen Aufwand zugänglich zu machen ist und man aus ethischer Sicht die Mutter und den Feten keinem unnötigen Risiko aussetzen darf. Aus diesem Grund beschränkt man sich auf in vitro Untersuchungen an frischen Plazentagewebe. Für Studien über den placentaren Metabolismus und Transfer von Medikamenten hat sich die getrennte Perfusion des maternalen und fetalen Kompartiments an einem isolierten Plazentakotelydon als geeignet erwiesen.

Die Methode der zweiseitigen in vitro Perfusion an einem isolierten Kotyledon wurde erstmals 1968 von Panigel et al. (1968) beschrieben. Später wurde es mehrmals modifiziert und technische Fehlerquellen reduziert [Schneider und Huch, 1985; Schneider und Dancis, 1987]. Unser Versuchsaufbau orientiert sich vor allem an der Beschreibung von H. Schneider und A. Huch (1985). In diesem Modell werden sowohl die Chorionplattengefäße des Feten als auch der maternale intervillöse Raum mit Perfusionslösung durchströmt und zwei getrennte, geschlossene Kreisläufe hergestellt.

1.5. Aufgabenstellung

Bei einer längerfristigen therapeutischen Anwendung von Nitroglyzerin oder Atosiban während der Schwangerschaft sollte die ärztliche Verantwortung darauf zielen, möglichst genau die Einflüsse auf die Plazenta und den Feten zu kennen. Die folgende Arbeit soll daher einen Erkenntnisbeitrag zum Einfluss von Nitroglyzerin und Atosiban auf den placentaren Metabolismus und Transfer leisten. Das Ziel war es metabolische Veränderungen und den transplacentaren Transfer während der doppelseitigen in vitro Perfusion eines isolierten Plazentakotyledons mit Nitroglyzerin oder Atosiban im maternalen Kreislauf zu untersuchen.

2. Material und Methoden

Die Methode der beidseitigen in vitro Perfusion des isolierten Plazentakotyledons geht auf Schneider und Huch (1985a) zurück. Für die Experimente wurden jeweils zehn Plazenten im maternalen Kompartiment mit Nitroglyzerin oder Atosiban über vier Stunden perfundiert. Es wurden fünf Leerperfusionsen durchgeführt, bei denen kein Medikament in das Perfusionsmedium appliziert wurde, um die Ergebnisse vergleichen zu können.

Es wurde nur Plazenten nach termingerechter vaginaler Geburt oder Kaiserschnitt nach unauffälligem Schwangerschaftsverlauf in die Versuchsreihe aufgenommen. Ausgeschlossen wurden Plazenten von Frühgeburten und von Müttern mit Erkrankungen in der Schwangerschaft, wie Diabetes und EPH-Gestosen.

2.1. Anordnung der Versuche

2.1.1. Präparation des Kotyledons und Versuchsaufbau

Nach der Entbindung wurde die Plazenta in vorgewärmte physiologische Kochsalzlösung gelegt und sogleich mit der Auswahl und Kanülierung eines geeigneten Lobulus begonnen. Die durchschnittliche Ischämieperiode von der Geburt der Plazenta bis zur Perfusion betrug 20 Minuten, niemals jedoch länger als 30 Minuten. In die versorgende fetale Arterie und Vene eines peripher gelegen Kotyledons wurden bulböse Metallkanülen eingebracht und mit 3 x 0 Vinyl Nahtmaterial (Ethicon) fixiert. Es erfolgte sofort die Perfusion mit auf 37°C vorgewärmter Perfusionslösung. Die Flussrate betrug zwischen 5,7 - 6 ml/min. Bei einem Verlust von 0,5 ml/min und mehr wurde der Kotyledon verworfen, da mit einem Membrandefekt zwischen maternalem und fetalem Kompartiment (leak) gerechnet werden musste.

Auf der maternalen Seite der Plazenta wurde der intervillöse Raum über einen Igel bestehend aus vier Schläuchen mit Metallkanülen durchspült. Der ausgewählte Kotyledon wurde aus der Plazenta herausgetrennt, wobei ausreichend Eihaut und Plazentagewebe vorhanden sein muss, um den Lobulus in die Plexiglaskammer einzuspannen (siehe Abbildung 7). Hierbei kommt der mütterliche Teil der Plazenta nach oben zum Liegen. Die aus der Dezipua heraustretende Flüssigkeit wurde mit einem Schlauch an der tiefsten Stelle des horizontal

eingespannten Lobulus abgepumpt. Die Flussrate betrug im maternalen Kreislauf 11,8 - 12 ml/min. Auch hier führte der Verlust von 0,5 ml/min oder mehr zum Ausschluss aus dem Experiment.

Schließlich wurde vom nicht perfundiertem Plazentagewebe eine Probe bei -169°C in flüssigem Stickstoff sofort eingefroren und später bei -80°C aufbewahrt.

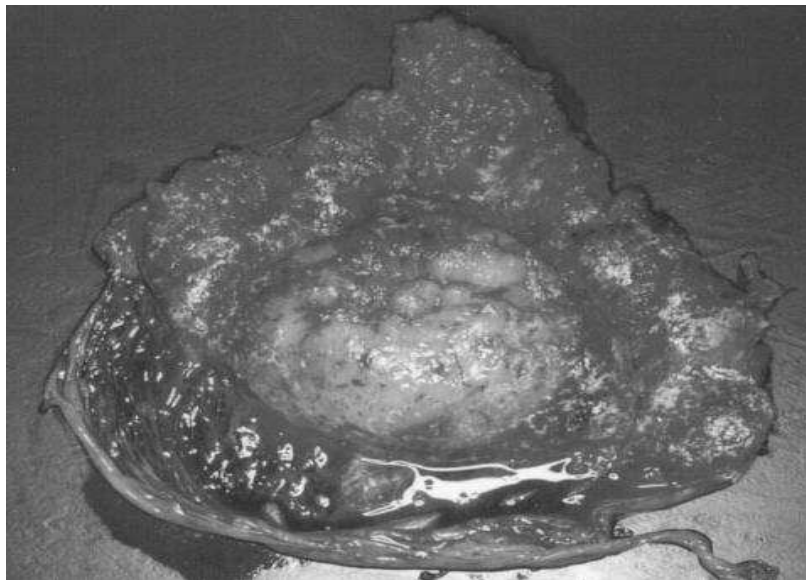


Abbildung 7 Ein Plazentakotyledon nach der Perfusion. Der helle Bezirk markiert deutlich das perfundierte Areal.

2.1.2. Aufbau und Prinzip des Perfusionskreislaufs

Der Plazentakotyledon befindet sich umgeben von einer Plexiglaskammer, welche mit auf 37°C erwärmten Wasser durchspült wird. Die Perfusionslösung wird über Teflonschläuche mittels Rollensumpen dem Plazentakotyledon zugeführt. Eine dritte Rollenspumpe pumpt die aus der Dezidua austretende Lösung zurück in den Reservoirbehälter (siehe Abbildungen 8). Die Flussrate beträgt im fetalen Kreislauf ca. 6 ml/min und im maternalen ca. 12 ml/min. Regelmäßige Kontrollen des Flusses dienen dem frühzeitigen Erkennen eines Membrandefekts. Zwei Meßzylinder dienen als Reservoir für die Perfusionslösung und befinden sich in einem Warmwasserbad bei einer Temperatur von 37°C . Anhand der Skala der Meßzylinder kann ständig die Menge des Perfusats kontrolliert werden. Über Glaspilotten wird das fetale Kompartiment mit 95 % Stickstoff und 5 % Kohlendioxid, das maternale

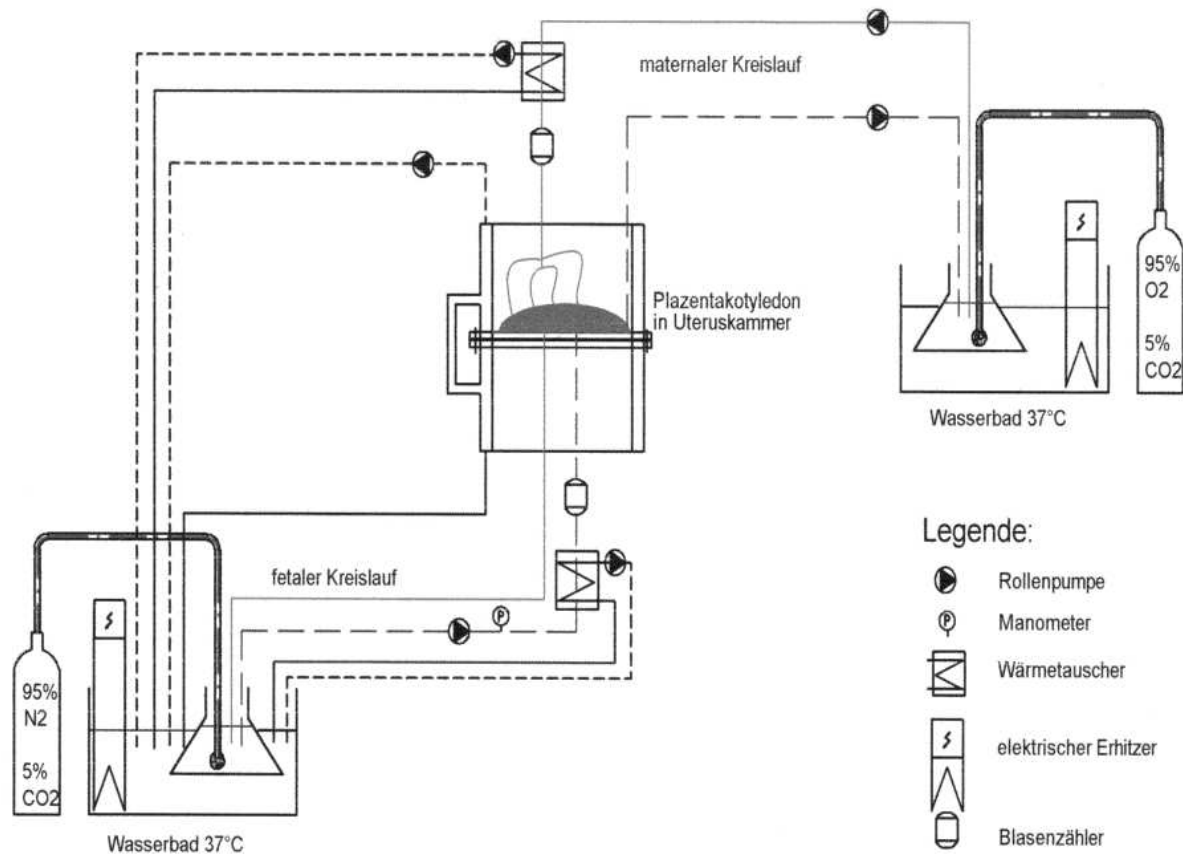


Abbildung 8 schematische Darstellung der Versuchsanordnung zur zweiseitigen in vitro Perfusion eines isolierten Kotyledons im Plazentalabor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Kompartiment mit 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid begast. Da sich die Temperatur der Perfusionslösung in den Schläuchen wieder abkühlt, wird sie kurz vor dem Kotyledon in Schleifen durch eine Wärmekammer geführt, welche aus dem Warmwasserbad gespeist wird. Blasenähler im maternalen als auch im fetalen Kreislauf verhindern Luftembolien in den Kapillaren der Plazenta. Über einen Dreiwegehahn ist ein Manometer in den zuführenden Schenkel des fetalen Kreislauf eingeschaltet. Der gemessene Druck lag im Bereich zwischen 10-45 mmHg. Steigt der Druck im fetalen Kreislauf über 45 mmHg, so führte das zum Abbruch des Experimentes.

Am Ende jeder Perfusion wurde der perfundierte Kotyledon gewogen und zunächst in flüssigen Stickstoff bei -169°C eingefroren und später bei -80°C aufbewahrt.

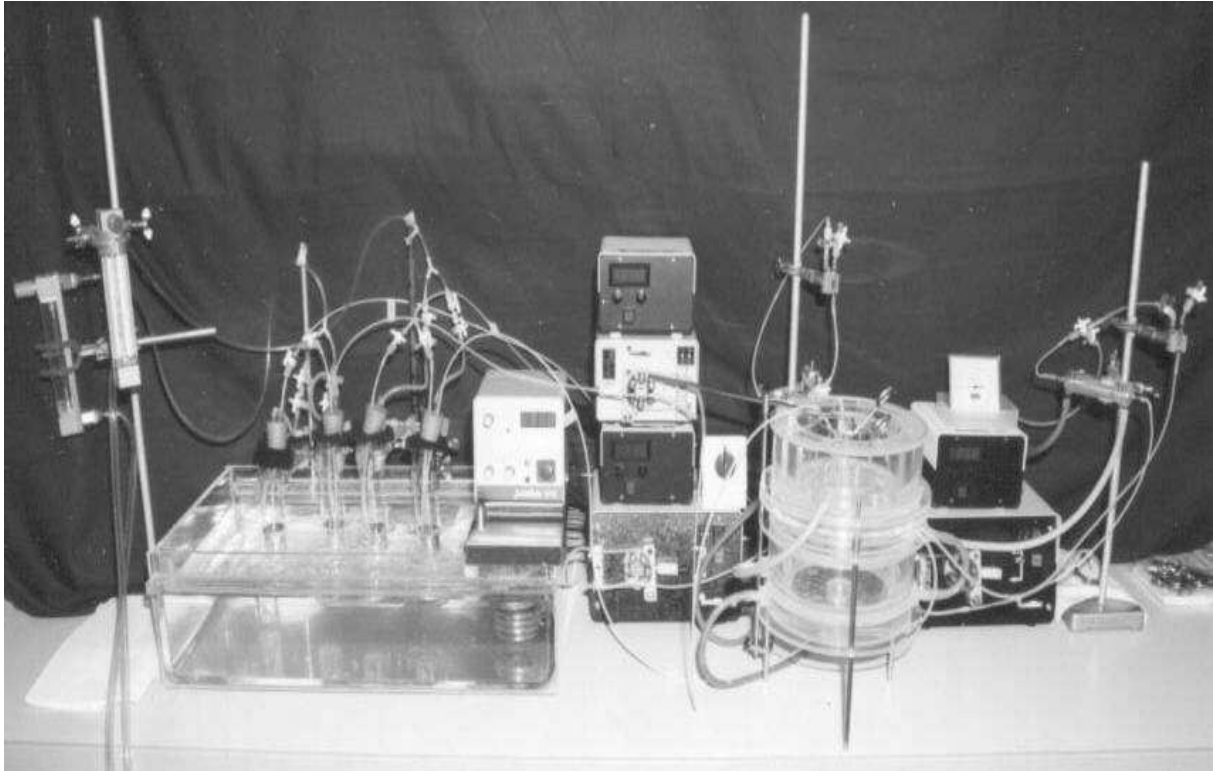


Abbildung 9 Fotografie der Versuchsanlagen zur zweiseitigen in vitro Perfusion humaner Plazentakotyledone: im Vordergrund rechts die Plexiglaskammer. Von links nach rechts: Warmwasserbad mit den Reservoirbehältern, Rollenpumpe und Flowmesser, Schlauchsysteme mit dem Blasenähler

2.1.3. Zusammensetzung der Perfusionslösung

Das Perfusionsmedium setzt sich zusammen aus Earl's-Puffer (Substanzen von J.T.Baker Analytik) und 9,2 g/l Zellzuchtmedium NCT-135 im Verhältnis 1:2 (Bio Whittacer Europe, Camprex Company), 40 g/l Bovinalbumin Fraktion V (Boehringer Mannheimer GmbH), 1,33 g/l D-Glukose (Merck Darmstadt), 250 mg/l Amoxicillin (Sigma Aldrich Chemie GmbH), 500 µg/l Heparin (Liquemin® N25000 5ml, Roche) und 10 g/l Dextran FP 40 (Serva, Elektrophoresis GmbH Heidelberg). Die Perfusionslösung wird mit 1molarer NaOH auf pH 7,4 eingestellt und bei – 20°C aufbewahrt.

Tabelle 1 Zusammensetzung der Perfusionslösung

| Erstellung 1 l Earl's Puffer | | Erstellung 1,5 l Perfusionslösung | |
|----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|
| NaCl | 6,8 g | NCT-135 (9,2 g/l) | 1 l |
| KCl | 0,4 g | Earl's Puffer | 0,5 l |
| NaH ₂ PO ₄ | 0,14 g | Albumin | 60 g |
| MgSO ₄ | 0,2 g | D-Glukose | 2 g |
| CaCl ₂ | 0,2 g | Amoxicillin | 375 mg |
| NaHCO ₃ | 1,8 g | Heparin | 750 µg |
| | | Dextran | 15 g |

Dem maternalen Perfusionskreislauf werden die beiden Markersubstanzen Antipyrin und Kreatinin, sowie entweder Nitroglyzerin oder Atosiban hinzugefügt. In den drei Phasen der Perfusion wird jeweils eine frische Perfusionslösung verwendet, so dass auch die genannten Substanzen erneut der Lösung beigemengt werden.

Tabelle 2 Zusätze zur Perfusionslösung im maternalen Kreislauf

| maternales Kompartiment in den einzelnen Phasen | | |
|---|---------------|----------|
| Vorphase 30 min: | Antipyrin | 80 mg/l |
| Kontollphase 2 h: | Antipyrin | 80 mg/l |
| | Kreatinin | 150 mg/l |
| Hauptphase 4 h: oder | Antipyrin | 80 mg/l |
| | Kreatinin | 150 mg/l |
| | Nitroglyzerin | 2 mg/l |
| | Atosiban | 400 µg/l |

2.1.4. Zeitlicher Ablauf der Versuche

Jeder Versuch wurde mit einer 30-minütigen offenen Perfusion beider Kompartimente eingeleitet um den intervillösen Raum als auch die Zottengefäße von Blut freizuspülen und den Stoffwechsel nach der Ischämieperiode seit Ausstoßung der Plazenta wieder zu aktivieren. Nach einem raschen Wechsel der Perfusionslösung wird eine zweistündige Kontrollperfusion ohne Zugabe von Nitroglyzerin oder Atosiban im geschlossenen Kreislauf durchgeführt. Sie dient dem intraindividuellen Vergleich der Ergebnisse. Für die vierstündige Hauptperfusion wird die Perfusionslösung erneut gewechselt und enthält nun eine Konzentration von 2 µg/ml Nitroglyzerin bzw. 400 ng/ml Atosiban im maternalen Kompartiment. Um eine gleichmäßige Verteilung des Medikaments im Kotyledon zu erreichen, findet zunächst eine zehnminütige offene Perfusion mit der Lösung statt, die ohne Pause in die vierstündige geschlossene Hauptperfusion übergeleitet wird. Es werden zu verschiedenen Zeitpunkten die Proben gewonnen.

Tabelle 3 Entnahme der Proben und Bestimmung der verschiedenen Parameter in der Perfusionslösung (ausführliche Tabelle siehe Anhang)

| | Zeitpunkt [min] | Menge [ml] | maternal | fetal | Bestimmung |
|---------------|-----------------|------------|-----------|-----------|---|
| Vorphase | 0 | 6 | arteriell | arteriell | Antipyrin-Clearence, Flußrate |
| | 30 | ml/ min | venös | venös | |
| | 31 | ml/min | venös | venös | |
| Kontrollphase | 0 | 6 | arteriell | arteriell | O ₂ Verbrauch, Glukose, Laktat, β-HCG, Kreatinin, Antipyrin |
| | 30 | 6 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 60 | 6 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 90 | 6 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 120 | 6 | art.+ven. | art.+ven. | |
| Hauptphase | 130 | 10 | arteriell | arteriell | O ₂ Verbrauch, Glukose, Laktat, Kreatinin, Antipyrin, GTN, Atosiban, β-HCG |
| | 160 | 10 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 190 | 10 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 220 | 10 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 250 | 10 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 310 | 10 | art.+ven. | art.+ven. | |
| | 370 | 10 | art.+ven. | art.+ven. | |

2.2. Qualitätskriterien der Perfusion

Das Anliegen mit dem in vitro Modell der Plazentaperfusion eines isolierten Kotyledons die Stoffwechselleistungen des plazentaren Gewebes und den Transfer applizierter Medikamente

zu untersuchen, wirft Fragen zur Validität einer solchen Perfusion auf. In der Vergangenheit wurden bereits Studien zur Verwendbarkeit und Zuverlässigkeit der Perfusion eines Plazentakotyledons angefertigt. Bloxam und Bullen (1986) konnten zeigen, dass das Plazentagewebe in der Lage ist die Ischämieperiode, die zwischen Geburt der Plazenta bis zur Perfusion entsteht mittels eines Anstiegs der ATP-Konzentration zu Beginn der normoxämischen Perfusion auszugleichen. Auf diese Weise konnte der Energiestatus teilweise wiederhergestellt werden und wurde über die Dauer der Perfusion konstant gehalten. Die Utilisation von Glukose sowie die Laktatproduktion sind allgemein akzeptierte Parameter, welche die metabolische Aktivität der in vitro perfundierten Plazenta belegen [Ilsley et al., 1984; Miller et al., 1985; Cannell et al., 1988]. Ähnlich beweist die Fähigkeit der Synzytiotrophoblasten das Proteohormon β -HCG zu sezernieren und zu produzieren die metabolische Aktivität der Zellen [Miller et al., 1985].

Bei der Messung des Übertritts von Sauerstoff, Nitroglyzerin und Atosiban während der in vitro Perfusion ist zu bedenken, dass der Transfer durch passive Diffusion von einer Anzahl von Variablen abhängig ist. Nach dem Fick'schen Diffusionsgesetz ist der Übertritt abhängig vom transplazentaren Konzentrationsgradienten und von der Dicke und Größe der Austauschfläche.

Während man bei der in vitro Perfusion den Konzentrationsgradienten leicht als Konzentrationsdifferenz zwischen maternalem und fetalem Kompartiment bestimmen kann, bleiben andere Variablen unbekannt. Hierzu gehören die Größe der Austauschfläche zwischen maternaler und fetaler Seite im Kotyledon sowie die Fließgeschwindigkeit der Perfusionslösung. Die in vitro Perfusion erlaubt zwar die Bestimmung der Flussrate in den beiden Kreisläufen, der effektive Flow an der Austauschmembran kann jedoch unterschiedlich sein, aufgrund von Shuntbildung oder nicht exakt überlappender Austauschflächen auf der maternalen und fetalen Seite.

Da man weder die Größe der Austauschfläche noch den effektiven Flow direkt messen kann, ist es notwendig Markersubstanzen während der Perfusion zu verwenden, deren Diffusion hauptsächlich durch eine der genannten Variablen bestimmt wird. Mit Hilfe solcher Markersubstanzen konnten wir die Konstanz der Austauschfläche und der Flussrate während der gesamten Perfusion kontrollieren.

Zur Überprüfung von Membranveränderungen und Flussgeschwindigkeit dienten die Kontrollsubstanzen Antipyrin 80 mg/l (Fluka AG) und Kreatinin 150 mg/l (Merck Darmstadt), die dem Perfusat auf der maternalen Seite zugesetzt werden. Für Antipyrin wird die Clearance während der dreißigminütigen offenen Vorphase bestimmt sowie der Transfer

zum fetalen Kreislauf während der Kontroll- und Hauptphase. Das lipidlösliche, inerte Antipyrin kann aufgrund seiner guten Lipophilie leicht biologische Membranen diffundieren. Seine Diffusionsrate ist daher Fluss limitiert und unabhängig von der Membrangröße [Schneider et al., 1972; Brandes et al., 1983]. Nach Schneider et al. (1985b) ist die diaplazentare Flussrate des Antipyrins direkt proportional zum Verhältnis des Flows auf der maternalen Seite zum Flow auf der fetalen Seite. Mit Hilfe dieser Feststellung kann der Vergleich der Antipyrin clearance mit den im maternalen und fetalen Kreislauf gemessenen Flow eine Aussage treffen über den effektiven Flow an der Austauschfläche des perfundierten Kötyledons.

Beim Kreatinin wird der Transfer zur fetalen Seite während der Kontroll- und Hauptphase bestimmt. Die Diffusionsrate des hydrophilen, langsam übertretenden Kreatinins wiederum ist direkt proportional zur Austauschfläche, also der Größe der Membran. Schwankungen der Flussgeschwindigkeit wirken sich daher kaum aus [Schneider und Dancis, 1987]. Bei der rezirkulierenden Plazentaperfusion sind Kontrollsubstanzen der Austauschfläche mit einem langsamen Transfer wie das Kreatinin geeignet, mögliche spontane Änderungen der Permeabilität der Austauschmembran zu erkennen.

Desweiteren dienten Messungen der Fließgeschwindigkeit im fetalen wie auch im maternalen Kreislauf sowie der Perfusionsdruck im zuführenden fetalen Schenkel des Kreislaufs der Qualitätskontrolle einer laufenden Perfusion. Der fetale Flow betrug zwischen 5,8 – 6,0 ml/min und war keinen Schwankungen während einer Perfusion unterworfen. Im maternalen Kreislauf betrug der Flow 11,8 – 12,0 ml/min und blieb ebenfalls konstant. Bei einem Verlust von 0,5 ml/min Perfusionslösung musste von einem Defekt in der Austauschmembran (leak) ausgegangen werden, der Konzentrationsbestimmungen in der Perfusionslösung verfälschen würde. Aus diesem Grund wurde in einem solchen Fall das Experiment abgebrochen und der Kötyledon verworfen.

Der Perfusionsdruck im fetalen arteriellen Kreislauf wurde kontinuierlich gemessen und sollte 45 mmHg nicht überschreiten. Ein plötzlicher Druckanstieg deutet auf eine Pathologie in den fetalen Gefäßzotten, wie eine mögliche Thrombosierung oder Embolie hin und war oftmals mit dem Entstehen eines leaks verbunden. Deshalb führte ein Druck über 45 mmHg ebenfalls zum Ausschluss.

2.3. Analytische Methoden

Zur Beurteilung des Plazentametabolismus dienten Messungen des plazentaren Glukoseverbrauchs, der Laktatproduktion und der Sekretion von Humanen Choriongonadotropin. Zudem wurde der Sauerstofftransfer ermittelt. Schließlich wurde noch die Konzentration von Atosiban und Nitroglyzerin und dessen Metabolite bestimmt. Die beiden Substanzen Antipyrin und Kreatinin dienten der qualitativen Beurteilung der Perfusion. Zur Bestimmung wurden Proben aus dem zuführenden und abführenden Schenkel des maternalen und fetalen Kompartiments verwendet.

2.3.1. Antipyrinbestimmung

Die Konzentration des Antipyrin (1-phenyl-2,3-dimethylpyrazolone-5-one), ein Analgetikum und Antipyretikum wurde nach einer Methode von Brodie und Mitarbeiter (1949) bestimmt. Zu 0,5 ml Perfusat wurden je 0,5 ml 10 % Zinksulfatlösung und 0,75 n Natronlauge zur Proteinfällung zugegeben, 30 Minuten geschüttelt und 0,5 ml Überstand abpipettiert. Das gewonnene Serum wurde mit 0,5 ml Mix bestehend aus 10 ml 0,2% Natriumnitrat, 10 ml 2 m Schwefelsäure und 80 ml H₂O vermischt und nach 15 min bei einer Wellenlänge $\lambda = 350$ nm am Spektrometer als Änderung der Extinktion zum Leerwert gemessen. Mittels einer mitgeführten Eichkurve wurde die Konzentration des Antipyrin mit der Einheit [µg/ml] bestimmt.

Die Antipyrin clearance dient als ein Qualitätskriterium und wurde während der dreißigminütigen, offenen Perfusion vor dem eigentlichen Beginn des Experiments bestimmt.

Die Antipyrin clearance [Schneider et al., 1985b] berechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{Antipyrin clearance [ml/min]} = \frac{C_{\text{fet}} \cdot Q_{\text{fet}}}{C_{\text{mat}}}$$

C_{fet} – Antipyrinkonzentration [µg/ml] im fetalen abführenden Schenkel nach 30 Minuten

C_{mat} – Antipyrinkonzentration [µg/ml] im maternalen zuführenden Schenkel zum Zeitpunkt Null

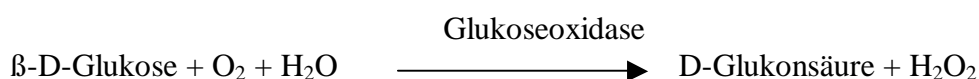
Q_{fet} – Flussrate [ml/min] im fetalen Kreislauf

2.3.2. Kreatininbestimmung

Die Kreatininkonzentration in der Perfusionslösung wurde mit dem manuellen Kit 555 von SIGMA Diagnostics kolorimetrisch bestimmt. Das Verfahren beruht auf der Jaffé-Reaktion [Jaffé, 1886] wobei ein gelb-oranger Farbkomplex entsteht, wenn Kreatinin mit alkalischem Pikrat behandelt wird. Das Verfahren wurde modifiziert von Slot (1965) und später von Heinegard und Tiderstrom (1973), die die Notwendigkeit eines Proteinniederschlag aufhoben. Ein Säurereagenz, bestehend aus Schwefelsäure und Essigsäure löst den Farbkomplex mit Kreatinin bei niedrigem pH wieder auf. Die Farbintensität vor und nach Säurezugabe wurde bei einer Wellenlänge von $\lambda = 500 \text{ nm}$ am Spektrometer gemessen. Die Differenz der gemessenen Farbintensitäten ist der Kreatininkonzentration proportional. Die Kreatininkonzentration wird in der Einheit $[\mu\text{g/ml}]$ angegeben.

2.3.3. Glukosebestimmung

Die Glukosekonzentration wurde am Beckman Glucose Analyzer 2 (USA) gemessen. Dem hier verwendeten Prinzip liegt die enzymatische Oxidation von β -D-Glukose in Gegenwart von Glukoseoxidase zugrunde. Die Glukoseoxidase ist in der kommerziellen Enzymlösung GOD (Bergmeyer 70) in einer Konzentration von 150 kU/l enthalten. Die Reaktionsgleichung lautet:



Die Abnahme des Sauerstoffs wurde an einer Sauerstoffelektrode gemessen und ist der umgesetzten Glukosemenge proportional. Mittels Eichung des Gerätes mit kommerziell erhältlichen Standardlösungen konnte die Konzentration in $[\text{mmol/l}]$ bestimmt werden.

2.3.4. Laktatbestimmung

Die Laktatkonzentration wurde am Blood Gas Analyzer Omni 990 bestimmt. Das Gerät ermittelt die Laktatkonzentration $[\text{mmol/l}]$ mittels elektrochemischer Messung der Spannungsdifferenz an einer Laktat-selektiven Elektrode.

2.3.5. Bestimmung des Humanen Choriongonadotropin

Humanes Choriongonadotropin (β -HCG) ist ein Hormon, welches von den Trophoblasten sezerniert wird. Es wurde mit einem Mikropartikel-Ezymimmunoassay (MEIA) an dem Gerät AxZYM System der Firma Abbott bestimmt. Der Überstand der abzentrifugierten Proben wurde verdünnt und ein Konjugat aus enzymmarkierten β -HCG Antikörper (alkalische Phosphatase) und mit Anti- β -HCG beschichteten Mikropartikeln hinzu pipettiert. Das β -HCG bindet sowohl die enzymmarkierten Antikörper als auch die antikörpergebundenen Mikropartikel. Auf diese Weise entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Dieses Gemisch wurde auf eine Glasfasermatrixzelle überführt, an der sich die Mikropartikel irreversibel binden. Nicht gebundenen Substanzen wurden ausgewaschen. Hinzugegebenes 4-Methylumbelliferylphosphat wird von der alkalische Phosphatase hydrolysiert und es entsteht das Fluoreszenzprodukt Methylumbelliferon. Ein optisches Meßsystem mißt das nach einer Anregung (365 nm) emittiertes Licht bei einer Wellenlänge von 448 nm. Die Geschwindigkeit, mit der das Fluoreszenzprodukt auf der Matrix gebildet wird, ist proportional zur Konzentration des β -HCGs in der Probe. Man erhält ein quantitatives Ergebnis mit der Einheit [mIU/ml].

2.3.6. Blutgasanalyse

Unmittelbar nach der Probenentnahme wurden Sauerstoffgehalt und der pH-Wert am Bloodgas Analyzer AVL 995 bestimmt. Der pH-Wert wurde in Proben aus dem zuführenden Schenkel des mütterlichen als auch des fetalen Kreislaufs bestimmt und bei Bedarf mit 1 m NaOH auf einen pH = 7,4 korrigiert. Der Sauerstoffgehalt wurde sowohl im zuführenden als auch im abführenden Schenkel beider Kreisläufe bestimmt. Aus den Werten wurde der Gesamtverbrauch des Sauerstoffs als Differenz der Konzentrationen im zuführenden und abführenden Schenkel im maternalem Kompartiment, der Transfer vom maternalen zum fetalen Kompartiment und der Sauerstoffverbrauch durch das Plazentagewebe berechnet. Nach Wier und Mitarbeitern (1983) berechnet sich der Sauerstoffverbrauch und -transfer wie folgt:

$$\text{O}_2\text{-Gesamtverbrauch [ml/(min}\cdot\text{kg)]} = \frac{(P_{\text{Mzu}} - P_{\text{Mab}}) \cdot 0,0239}{(P_{\text{B}} - P_{\text{H}_2\text{O}})} \cdot \frac{Q_{\text{M}}}{W}$$

P_{Mzu} – Sauerstoffpartialdruck in mmHg im zuführenden Schenkel des maternalen Kompartiments

P_{Mab} – Sauerstoffpartialdruck in mmHg im abführenden Schenkel des maternalen Kompartiments

P_B – Luftdruck in mmHg zum Zeitpunkt der Perfusion

P_{H_2O} – Wasserverdampfungsdruck bei 37°C in mmHg, $P_{H_2O} = 47,1$ mmHg

0,0239 – Löslichkeitskoeffizient von Sauerstoff in Milliliter Sauerstoff pro Milliliter Perfusat [Wier et al., 1983]

Q_M – maternale Flussrate in ml/min

W – Naßgewicht des perfundierten Kotyledons in kg

$$O_2\text{-Transfer [ml/(min}\cdot\text{kg)]} = \frac{(P_{Fab} - P_{Fzu}) \cdot 0,0239}{(P_B - P_{H_2O})} \cdot \frac{Q_F}{W}$$

P_{Fab} – Sauerstoffpartialdruck in mmHg im abführenden Schenkel des fetalen Kompartiments

P_{Fzu} – Sauerstoffpartialdruck in mmHg im zuführenden Schenkel des fetalen Kompartiments

Q_F – fetale Flussrate in ml/min

Der Sauerstoffverbrauch des Plazentagewebes berechnet sich aus der Differenz von Gesamtverbrauch und Transfer.

$$\text{plazentarer } O_2\text{-Verbrauch [ml/(min}\cdot\text{kg)]} = O_2\text{-Gesamtverbrauch} - O_2\text{-Transfer}$$

2.3.7. Nitroglyzerinbestimmung

Die Konzentration des Nitroglyzerins wurde sowohl in maternalen als auch in fetalen Proben der Perfusionslösung mittels HPLC [Gelber und Papas, 1983; Baaske et al., 1983, Henning und Benecke, 1987] bestimmt. Bevor die Nitroglyzerinkonzentration bestimmt wurde mussten alle gereinigten Glasgeräte silanisiert [Olsen und Scrooggins, 1983] werden. 3 ml

Probe wurden mit 5 ml n-Pentan versetzt und 10 Minuten geschüttelt. Nachdem 5 Minuten bei 1200 U/min zentrifugiert wurde, werden 4 ml von der organischen Phase abpipettiert. Die Probe wurde in ein Konzentrationsglas überführt und erneut mit 5 ml n-Pentan geschüttelt und zentrifugiert. Es wurden nun 4,5 ml abpipettiert und die vereinigten organischen Überstände bis fast zur Trockne unter Stickstoff eingeeengt (aufgrund der Flüchtigkeit von Nitroglycerin). Der Rückstand wurde in 100 ml Eluent bestehend aus Methanol und Wasser (50 : 50) gelöst. Die auf diese Weise vorbereiteten Proben wurden an der HPLC von Gynkotec quantitativ gemessen, wobei immer ein Leerplasma und eine Standardlösung mitgeführt wurden. Die verwendete Säule AS 12 SO 50504 mit einem Durchmesser von 50 x 4,0 mm wurde bei der Firma YMC Europe GmbH bezogen. Es bestand eine Retentionszeit von 2,15 Minuten. Die auf diese Weise gemessenen Nitroglycerinkonzentrationen werden in [µg/ml] angegeben.

2.3.8. Atosibanbestimmung

Der Atosibangehalt in fetalen und maternalen Proben wurde mittels Radioimmunassay (RIA) bei der Firma Ferring, deren Produkt Atosiban ist bestimmt.

Zunächst wurde Atosiban aus dem Plasma extrahiert, um störende Substanzen zu entfernen. 100 –500 µl Plasma wurden auf die Fest-Phasen Chromatographiesäule appliziert und mit Wasser und Methanol gespült. Die Atosibanfraktion wurde mit 4 %iger Trifluoressigsäure ausgewaschen und mit Nitrogas getrocknet. Die Probe wurde dann in albuminhaltigem Serum und einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung regeneriert.

Für den RIA wurden die Proben verdünnt und auf 100µl mit Wasser aufgefüllt. Die Proben wurden mit ¹²⁵Iod-markierten Atosiban und Atosiban-Antikörper (Ferring rabbit Ab911004) geschüttelt und für eine Stunde inkubiert. Im Anschluss wurde ein zweiter Antikörper (Bio-Rad Immunobead Reagent, Bio-Rad, Palo Alto, Calif.) hinzugefügt, geschüttelt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Am darauffolgenden Tag wurden die Reagenzgläser geschüttelt und bei 3000 U/min für 15-30 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen. Der Rückstand wurde mit albuminhaltiger und phosphatgepuffelter Kochsalzlösung gewaschen. Der Überstand wurde erneut verworfen und der Atosibangehalt mit der Einheit [ng/ml] im Rückstand mittels eines γ-Zählers bestimmt.

3. Datenanalyse

3.1. Darstellung der Ergebnisse

Die gemessenen Konzentrationen von Glukose, Laktat, β -HCG, Nitroglyzerin, Atosiban und der Sauerstofftransfer und –verbrauch wurden jeweils auf das Naßgewicht des perfundierten Plazentakotyledons umgerechnet. Dabei wurde die Konzentration auf ein Kilogramm Kotelydongewicht bezogen, weil damit gerechnet werden muss, dass ein großer Kotyledon einen höheren Stoffumsatz hat als ein Kleinerer. Auf diese Weise wurde ein Vergleich der Perfusionen verschiedener Plazentakotyledone ermöglicht.

$$C_W \text{ [Menge/kg]} = \frac{C_M \cdot V_{\text{Res}}}{W_{\text{Kot}}}$$

C_W – Menge der Substanz pro Kilogramm Naßgewicht des perfundierten Kotyledons

C_M – Menge der Substanz pro Liter Perfusionslösung

V_{Res} – Volumen der Perfusionslösung in Liter im Reservoir zum Zeitpunkt der Messung

W_{Kot} – Naßgewicht des perfundierten Kotyledons in Kilogramm

3.2. Statistische Bewertung

Unter Verwendung der Microsoft Excel-Version 5.0 werden die Ergebnisse als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben. Die Bestimmung von Glukose, Laktat und β -HCG ergab eine Ab- bzw. Zunahme der Konzentration im Perfusionsmedium. Mittels der linearen Regressionsanalyse wurde die Glukoseverbrauchs-, Laktatproduktions- und β -HCG-Sekretionsrate mit der Einheit [mmol/(min·kg)] berechnet. Zur Berechnung der Signifikanz wurde der zweiseitige gepaarte T-Test nach Student verwendet. Dabei wurde immer die zweistündige Kontrollphase mit jeweils zwei Stunden der Hauptphase, d. h. zwei Stunden Perfusion mit Nitroglyzerin oder Atosiban verglichen. Beim Vergleich der fünf Leerperfusionen mit den je zehn Medikamentenperfusionen können Veränderungen über die Zeit unterschieden werden von Änderungen der Stoffwechsel- und Transferleistung des Gewebes, die auf den Einfluss des Medikaments zurückzuführen sind.

4. Ergebnisse der Perfusionen

4.1. Ergebnisse der Leerperfusionen

Es wurden fünf sechsstündige Perfusionen durchgeführt, bei denen kein Medikament in den maternalen Kreislauf appliziert wurde. Diese Leerperfusionen dienten dem Vergleich von Veränderungen des Metabolismus und des Transfers, die über die Zeit stattfinden, mit den Änderungen, die allein auf den Einfluß von Nitroglyzerin oder Atosiban zurückzuführen sind. Die Ergebnisse können in Tabellen im Anhang eingesehen werden und zeigen alle Ergebnisse als Mittelwerte mit Standardabweichung. Im Einzelnen werden die Werte in Verbindung mit den Ergebnissen aus den Perfusionen mit Nitroglyzerin und Atosiban dargestellt.

4.2. Ergebnisse der Experimentalperfusionen

4.2.1. Antipyrin

Vor Beginn der eigentlichen Perfusion wurde jeweils 30 Minuten offen, d. h. nicht rezirkulierend perfundiert. Dies diente dem Ausgleich der Ischämieperiode, der Messung der Flußrate im maternalen und fetalen Kreislauf sowie der Bestimmung der Antipyrinclearance.

Die Antipyrinclearance betrug in den zehn Nitroglyzerinperfusionen im Durchschnitt $2,2 \pm 0,5$ ml/min bei einem mittleren Kotyledongewicht von 16,1 g. In den zehn Atosibanperfusionen betrug die Antipyrinclearance $2,8 \pm 0,5$ ml/min bei einem mittleren Kotyledongewicht von 17,8 g. Der Flow betrug in unseren Experimenten im fetalen Kreislauf im Mittel je 5,8 ml/min und im maternalen Kompartiment 11,9 ml/min beziehungsweise 11,8 ml/min. Daraus berechnet sich das Verhältnis der fetalen Flußrate zur maternalen Flußrate zu einem Wert von $\text{FFR/MFR} = 0,49$. Auf Grund der Ähnlichkeit der Flußratenverhältnisse, kann die von mir bestimmte Clearance mit dem Wert von Schneider et al. [49] verglichen werden (Tabelle 4).

Demzufolge war das Verhältnis des gemessenen Flow in den Perfusionskreisläufen mit Pharmaka den effektiven Flußraten an der Austauschmembran gleich. Shunts konnten daher ausgeschlossen werden, und es zeigte sich, dass die perfundierten Areale auf der maternalen und fetalen Seite der Austauschmembran der Plazenten gut zur Deckung kamen.

Tabelle 4 Antipyrinclearance; FFR: fetale Flußrate, MFR: maternale Flußrate

| | Schneider et al. [49] n = 7 | | Nitroglyzerinperfusion n = 10 | | Atosibanperfusion n = 10 | |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|
| | <u>FFR</u> MFR | Antipyrin [ml/min] | <u>FFR</u> MFR | Antipyrin [ml/min] | <u>FFR</u> MFR | Antipyrin [ml/min] |
| Mittelwerte | 0.52 | 2.55 | 0.49 | 2.24 | 0.49 | 2.8 |
| Spannweite | 0,43 - 0,65 | 1,93 - 2,93 | 0,475 - 0,5 | 1,4 - 2,85 | 0,47 - 0,5 | 1,94 - 3,49 |

Während der Dauer der sechsstündigen Perfusion wurde die Konzentrationsabnahme des Antipyrin im maternalem Kreislauf und die Konzentrationszunahme im fetalen Kreislauf bestimmt. Wegen seines lipophilen und niedermolekularen Charakters findet ein flußkontrollierter Übertritt des Antipyrins in den fetalen Kreislauf statt. Es wird rasch ein Equilibrium der Konzentrationen erreicht. Die Kurven zeigen den zu erwartenden Konzentrationsverlauf und belegen die Konstanz des Antipyrintransfers.

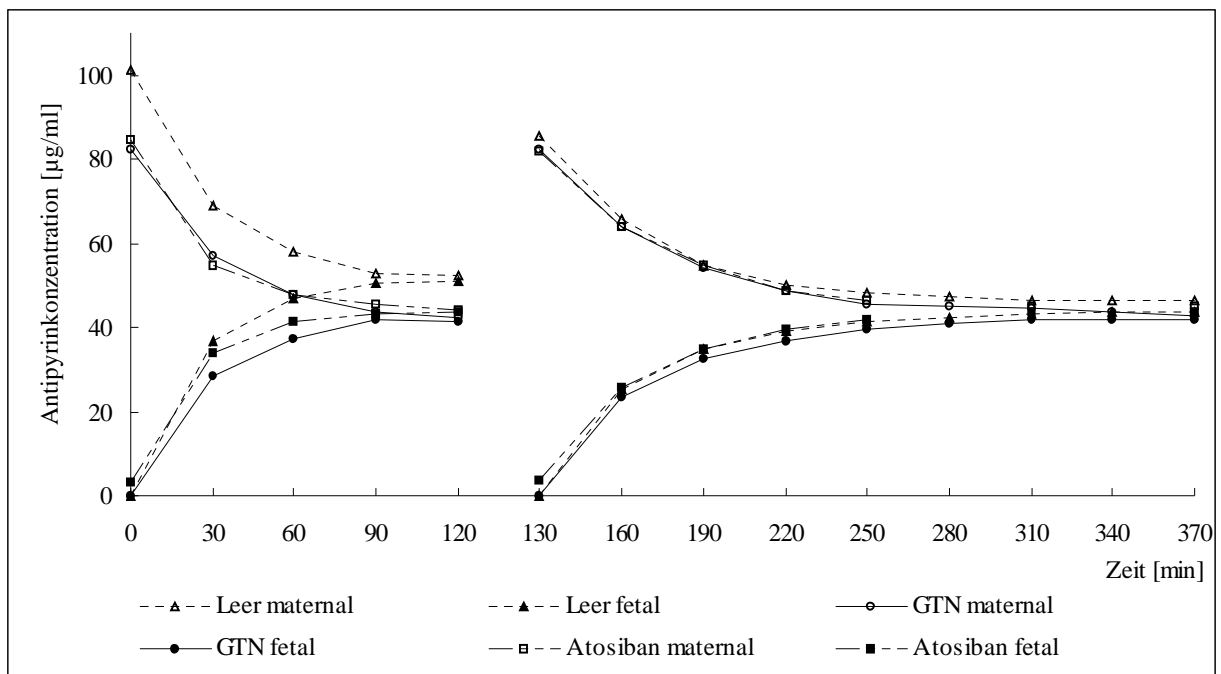


Abbildung 10 Antipyrintransfer vom maternalen zum fetalen Kompartiment als Mittelwert, Nitroglyzerinperfusionen n = 10, Leerperfusion n = 5, Atosibanperfusion n = 10; während der Perfusionsphase 0-120 Minuten erfolgte die Kontrollperfusion ohne Medikament, 130-370 Minuten mit Pharmakon, Wechsel der Perfusionslösung zum Zeitpunkt 130

Beim Vergleich der Kurven der Nitroglycerin-, bzw. Atosibanperfusionen mit der Leerperfusion ist die Kongruenz der Konzentrationskurven während der Hauptperfusion deutlich zu erkennen. Dies zeigt, dass sowohl Nitroglycerin als auch Atosiban keinen Einfluß auf die Flußrate an der Austauschfläche der Plazenta hatten. Dementsprechend kann von einem unbeeinflussten Transfer flußabhängiger Substanzen ausgegangen werden.

4.2.2. Kreatinin

Die Kreatininkonzentration wurde während der sechsstündigen Perfusion sowohl im maternalen als auch im fetalen Kompartiment bestimmt und ist in Abbildung 11 aufgetragen. Das hydrophile Kreatinin diffundiert langsam vom maternalen in den fetalen Kreislauf, so dass nach sechs Stunden noch kein Equilibrium erreicht war. Der Übertritt des Kreatinins ist membranlimitiert und abhängig von der Größe der Austauschfläche. Die Konstanz des Kreatinintransfers beschreibt die Stabilität der Permeabilität während der Dauer der Perfusion und läßt Rückschlüsse auf einen Defekt in der plazentaren Membran zu. Wie der Abbildung 11 zu entnehmen ist bestand kein Membrandefekt während unserer Versuche.

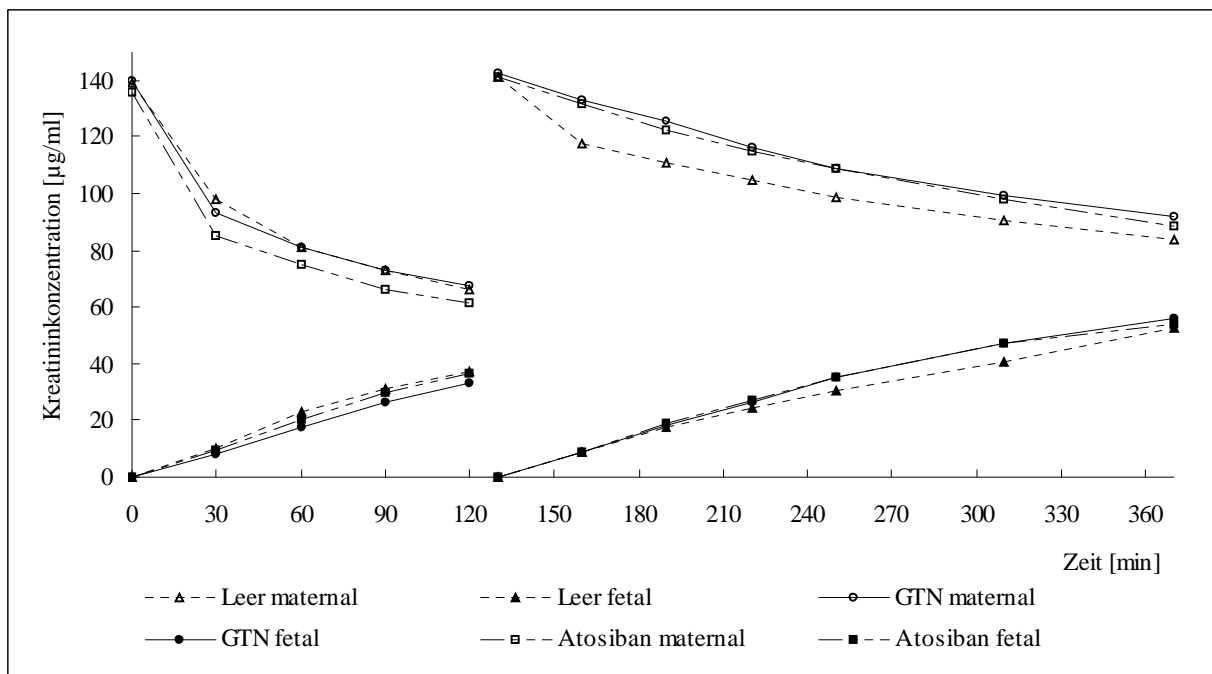


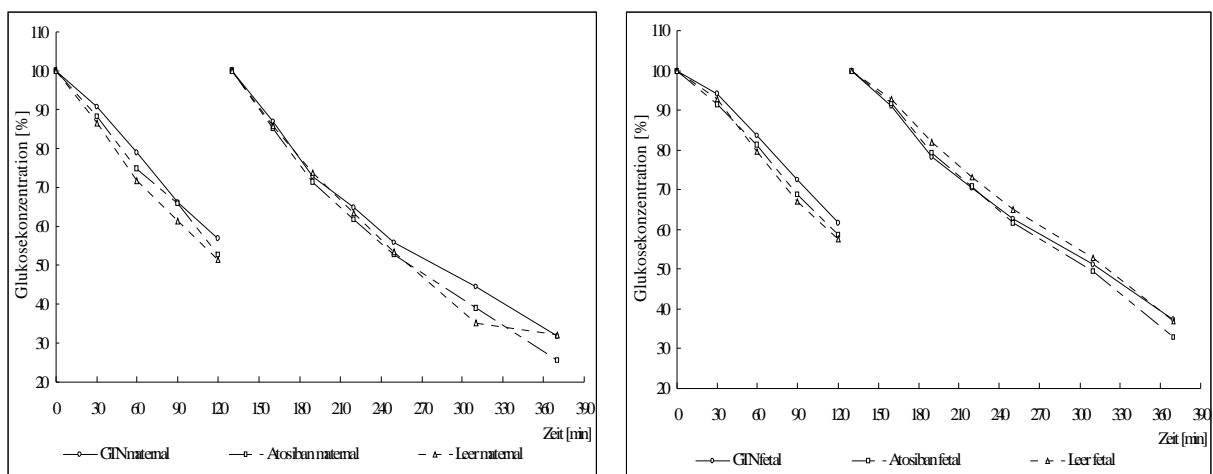
Abbildung 11 Kreatinintransfer vom maternalen ins fetale Kompartiment als Mittelwert, Nitroglycerinperfusionen $n = 10$, Leerperfusion $n = 5$, Atosibanperfusionen $n = 10$; während der Perfusionsphase 0-120 Minuten erfolgte die Kontrollperfusion ohne Medikament, 130-370 Minuten mit Pharmakon, Wechsel der Perfusionslösung zum Zeitpunkt 130

Bei dem Vergleich der Leerperfusionen mit den Werten der Nitroglycerin- und Atosibanperfusionen wurde kein Unterschied des Kreatinintransfers deutlich. Das weist

darauf hin, dass die Applikation der Pharmaka die Größe der Austauschfläche nicht beeinflusst.

4.2.3. Glukose

Im Verlauf der Perfusionen mit Nitroglyzerin und mit Atosiban nahm die Glukosekonzentration kontinuierlich sowohl im fetalen als auch im maternalen Kreislauf ab. Dies deutet auf die Fähigkeit der Glykolyse des in vitro Plazentakotyledons hin.



a)

b)

Abbildung 12 Glukosekonzentrationen in den Perfusionen mit Nitroglyzerin, Atosiban und in den Leerperfusionen: a) maternaler Kreislauf, b) fetaler Kreislauf; Mittelwerte in % der Ausgangskonzentration; Nitroglyzerinperfusionen $n = 10$, Leerperfusion $n = 5$, Atosibanperfusionen $n = 10$; während der Perfusionsphase 0-120 Minuten erfolgte die Kontrollperfusion ohne Medikament, 130-370 Minuten mit Pharmakon, Wechsel der Perfusionslösung zum Zeitpunkt 130

Durch die lineare Regressionsanalyse des Konzentrationsabfalls stellt sich die Glukoseverbrauchsrate dar. Dabei fiel auf, dass der Glukoseverbrauch sowohl im maternalen als auch im fetalen Kreislauf in den ersten beiden Stunden der Hauptphase (Minute 130–250), sowohl in den Leerperfusionen als auch in den Perfusionen mit Nitroglyzerin und Atosiban im Vergleich zur zweistündigen Kontrollperfusion (Minute 0-120) erhöht war. Die starke Abnahme der Glukoseverbrauchs in den letzten beiden Stunden (Minute 250-370) der Experimente beruhte auf dem abnehmenden Glukoseangebot in der Perfusionslösung. Es besteht jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Leerperfusionen, Atosiban- und Nitroglyzerinperfusionen.

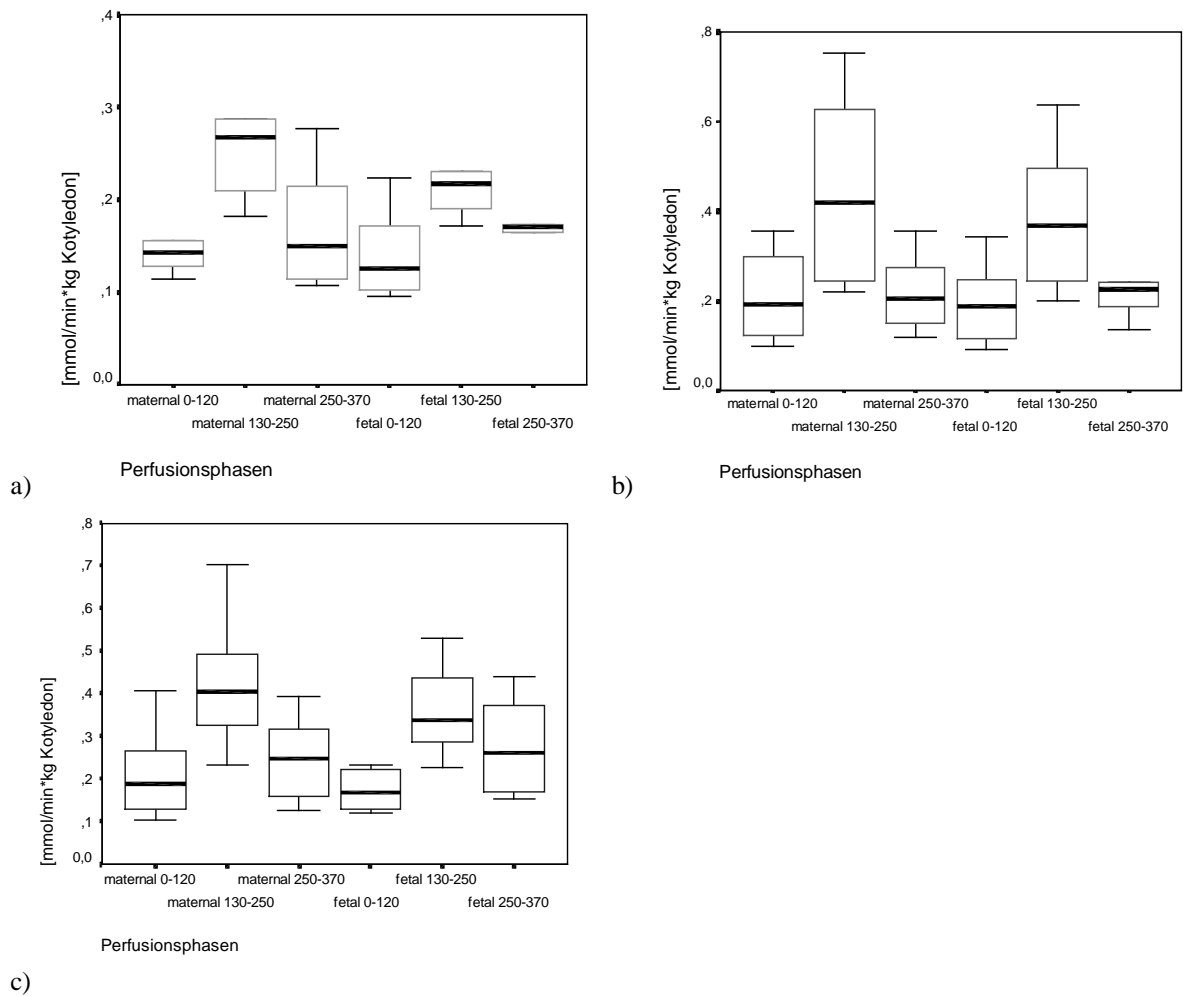
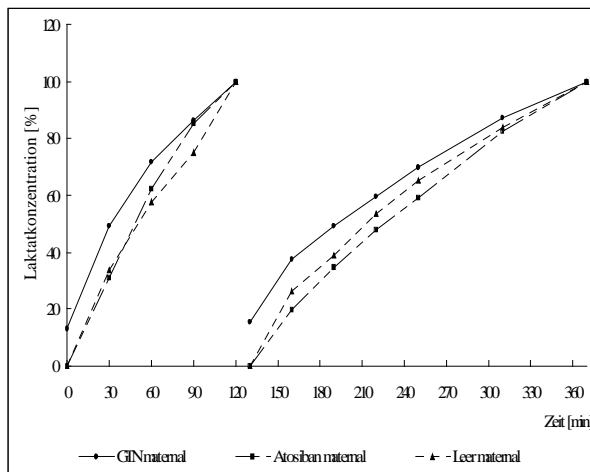


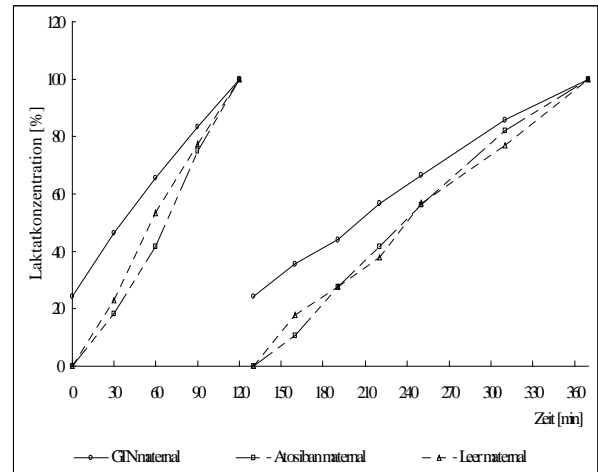
Abbildung 13 Glukoseverbrauchsrate a) Leerperfusion n= 5, b) Nitroglyzerinperfusion n=10, c) Atosibanperfusion n=10; Perfusionsphase 0-120 jeweils ohne Medikamenteneinfluß

4.2.4. Laktat

Während der sechsstündigen Perfusion konnte eine Zunahme der Laktatkonzentration gemessen werden. Diese Konzentrationszunahme während der Perfusionen mit Nitroglyzerin und Atosiban war vergleichbar mit der Laktatproduktion in den Leerperfusionsen (siehe Abbildung 14).



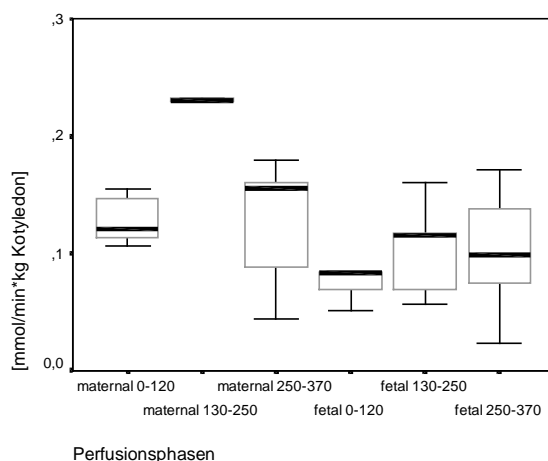
a)



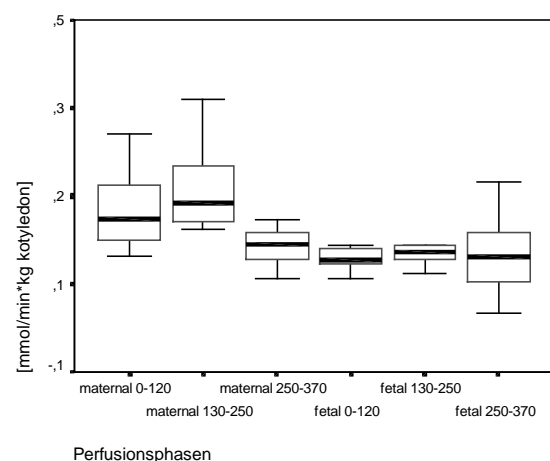
b)

Abbildung 14 Laktatkonzentrationen in den Perfusionen mit Nitroglyzerin, Atosiban und in den Leerperfusionen: a) maternaler Kreislauf, b) fetaler Kreislauf; Mittelwerte in % der Endkonzentration; Nitroglyzerinperfusionen $n = 10$, Leerperfusion $n = 5$, Atosibanperfusionen $n = 10$; während der Perfusionsphase 0-120 Minuten erfolgte die Kontrollperfusion ohne Medikament, 130-370 Minuten mit Pharmakon, Wechsel der Perfusionslösung zum Zeitpunkt 130

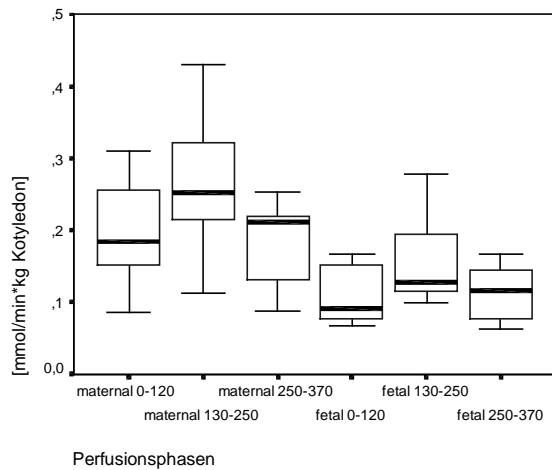
Mittels der Regressionsanalyse der Abnahme der Laktatkonzentration wurde die Laktatproduktionsrate ermittelt. Es zeigte sich, dass die Laktatproduktion im fetalen Kreislauf während der Leerperfusionen als auch während der Nitroglyzerin- und Atosibanperfusionen konstant blieb. Im maternalem Kreislauf stieg jedoch die Laktatproduktionsrate während den ersten zwei Stunden der Hauptperfusion (Minute 130 – 250) im Vergleich zur Kontrollphase (Minute 0 – 120) sowohl in der Leer- als auch in den Medikamentenperfusionen signifikant an. In den letzten beiden Stunden der Hauptperfusion (Minute 250 – 370) sank die Laktatproduktion tendentiell in der Leerperfusion. Der Abfall der Laktatproduktionsrate war in der dritten und vierten Stunde der Perfusion mit Nitroglyzerin und Atosiban im Vergleich zur Kontrollphase signifikant.



a)



b)



c)

Abbildung 15 Laktatverbrauchsrate a) Leerperfusion $n=5$, b) Nitroglyzerinperfusion $n=10$, c) Atosibanperfusion $n=10$; Perfusionsphase 0-120 jeweils ohne Medikamenteneinfluß

Vergleicht man die Ergebnisse mit den Leerperfusionsen, so besteht kein signifikanter Unterschied.

4.2.5. Humanes Choriongonadotropin

Der in vitro perfundierte Cotyledon besitzt die Fähigkeit kontinuierlich das Proteohormon β -HCG zu sezernieren. Im maternalen Kreislauf ließ sich daher ein Zunahme der β -HCG-Konzentration messen. Die β -HCG-Sekretion der Nitroglyzerin- und Atosibanperfusionsen war jeweils vergleichbar mit der der Leerperfusionsen.

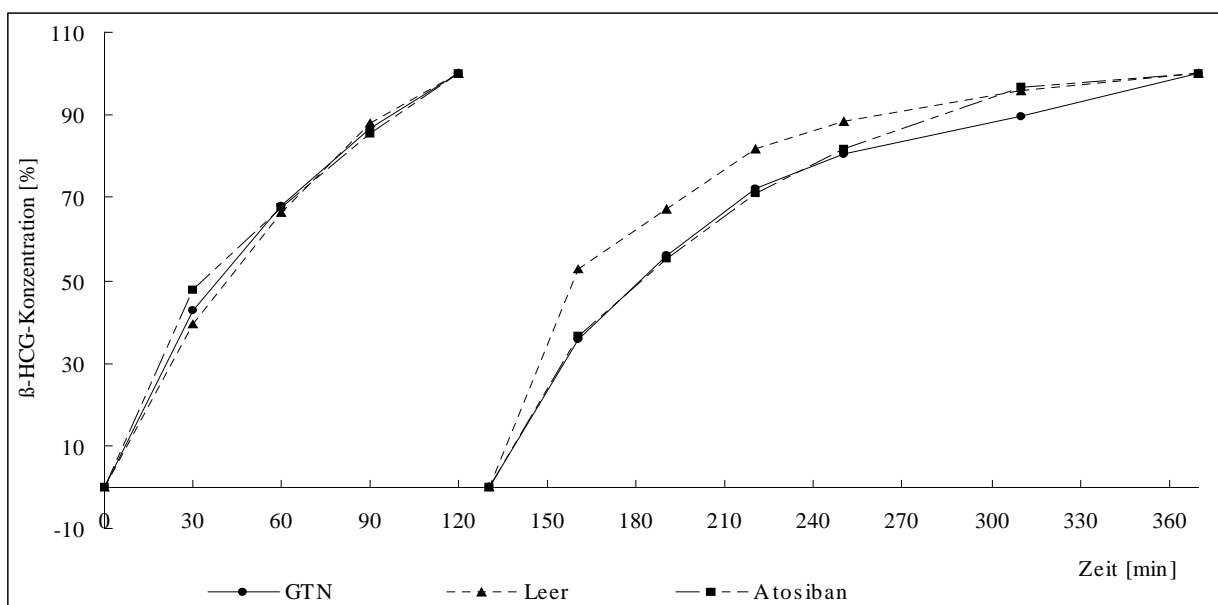


Abbildung 16 β -HCG Konzentration in den Perfusionsen mit Nitroglyzerin und Atosiban und in den Leerperfusionsen, Mittelwerte in % der Endkonzentration, Phase 0-120 ohne Medikamenteneinfluß

Die Regressionsanalyse der Konzentrationszunahme beschreibt die Freisetzungsrates des β -HCG. Dabei zeigte sich, dass die Sekretionsrate in der Hauptphase 1 (Minute 130 – 250) gleich der Freisetzungsrates in der Kontrollphase (Minute 0 – 120) war. Es konnte hier kein Unterschied zwischen den Leerperfusionsen und den Perfusionsen mit Nitroglyzerin oder Atosiban nachgewiesen werden.

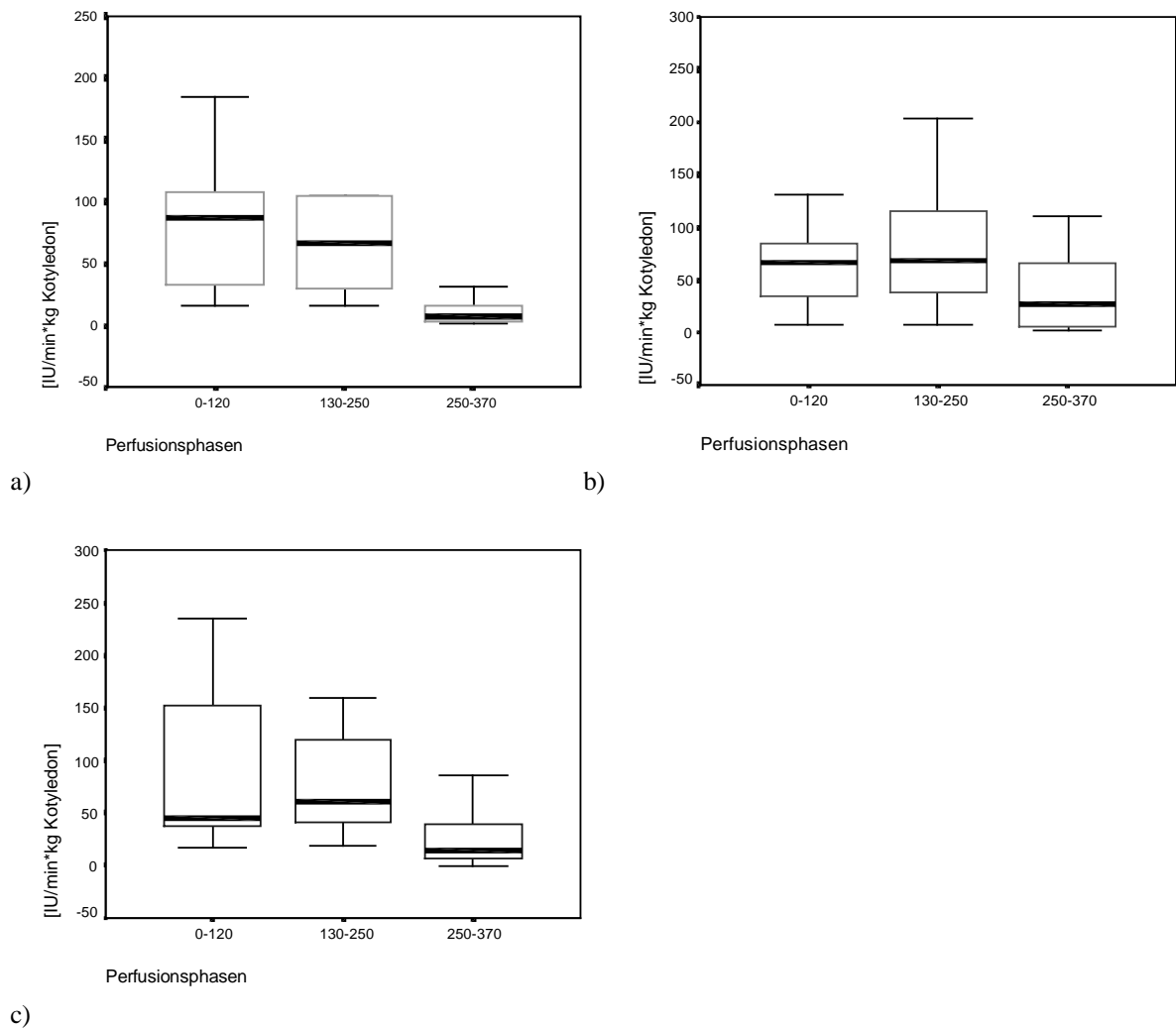


Abbildung 17 β -HCG Freisetzungsrates a) Leerperfusion $n=5$, b) Nitroglyzerinperfusion $n=10$, c) Atosibanperfusion $n=10$; Perfusionsphase 0-120 jeweils ohne Medikamenteneinfluss

4.2.6. Sauerstoffverbrauch

Der Sauerstoffgesamtverbrauch in der Perfusionslösung veränderte sich während einer vierstündigen Atosiban- und Nitroglyzerinperfusion nicht signifikant im Vergleich zur zwei Stunden dauernden Kontrollperfusion. Zum Ende der Perfusion mit Nitroglyzerin und Atosiban zeigte sich ein tendentieller Abfall des Sauerstoffgesamtverbrauchs. In den Leerperfusionsen zeigte sich der Abfall des Sauerstoffverbrauchs bereits nach den ersten zwei

Stunden (nach Minute 120), unterschieden sich aber nicht signifikant von den Medikamentenperfusionen.

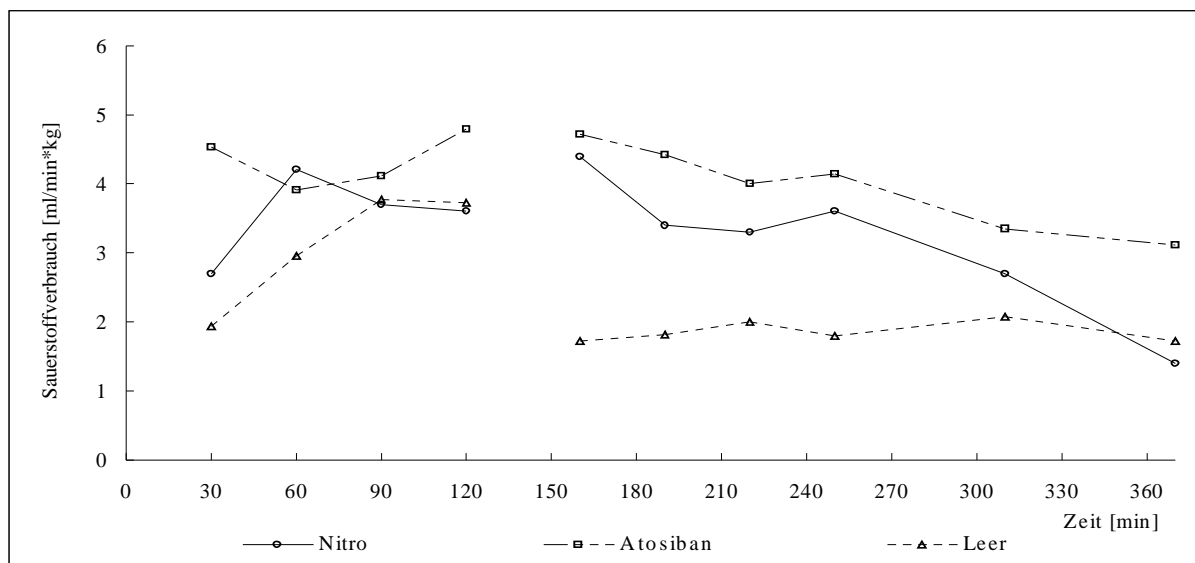


Abbildung 18 Sauerstoffverbrauch in den Perfusionen mit Nitroglyzerin und Atosiban und in den Leerperfusionen, Phase 0-120 ohne Medikamenteneinfluß, 130-370 mit Medikamenten in der Perfusionslösung

Der plazentare Sauerstoffverbrauch berechnet sich aus der Differenz des Gesamtsauerstoffverbrauchs und dem Sauerstofftransfer in den fetalen Kreislauf. Während der Atosiban- und Nitroglyzerinperfusionen blieb der Sauerstoffverbrauch durch das Gewebe des Plazentakotyledons unverändert. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen der Leerperfusionen. Beide Pharmaka beeinflussten also den Sauerstoffverbrauch des Plazentagewebes nicht.

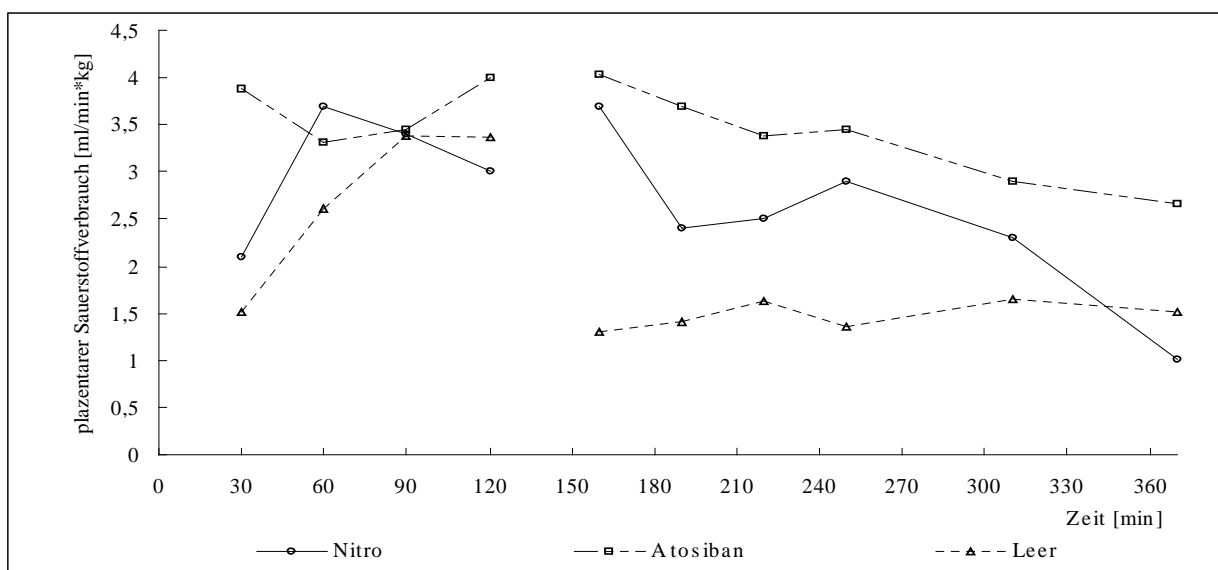


Abbildung 19 plazentarer Sauerstoffverbrauch der Perfusionen mit Nitroglyzerin und Atosiban und den Leerperfusionen, Phase 0-120 ohne Medikamenteneinfluß

4.2.7. Sauerstofftransfer

Der Sauerstofftransfer von der maternalen in die fetale Zirkulation fand nur eine geringe Beeinflussung durch Nitroglyzerin. Nach einmaliger Applikation von Nitroglyzerin in das Perfusionsmedium (Minute 120) stieg der Sauerstofftransfer tendenziell an und fiel dann über zwei Stunden wieder langsam ab. In den letzten beiden Stunden sank der Sauerstofftransfer etwas schneller unter den Ausgangswert ab. Diese beobachteten Unterschiede (Minute 130 – 250) waren jedoch nicht signifikant ($p = 0,08$) zur Kontrollphase (Minute 0 – 120) der Nitroglyzerinperfusion. In der Leerperfusion zeigte sich aber keinerlei Schwankungen während der gesamten sechs Stunden der Perfusion. Daher scheint der erhöhte Sauerstofftransfer in den ersten zwei Stunden (Minute 130 – 250) der Perfusion mit Nitroglyzerin auf die Applikation des Medikaments zurückzuführen zu sein.

Atosiban hingegen beeinflusste den Sauerstofftransfer zum fetalen Kreislauf nicht. Wie auch in der Leerperfusion blieb der Sauerstofftransfer während der Kontroll- und Hauptphase konstant und zeigte erst in den letzten zwei Stunden (Minute 250 – 370) einen geringen, nicht signifikanten Abfall.

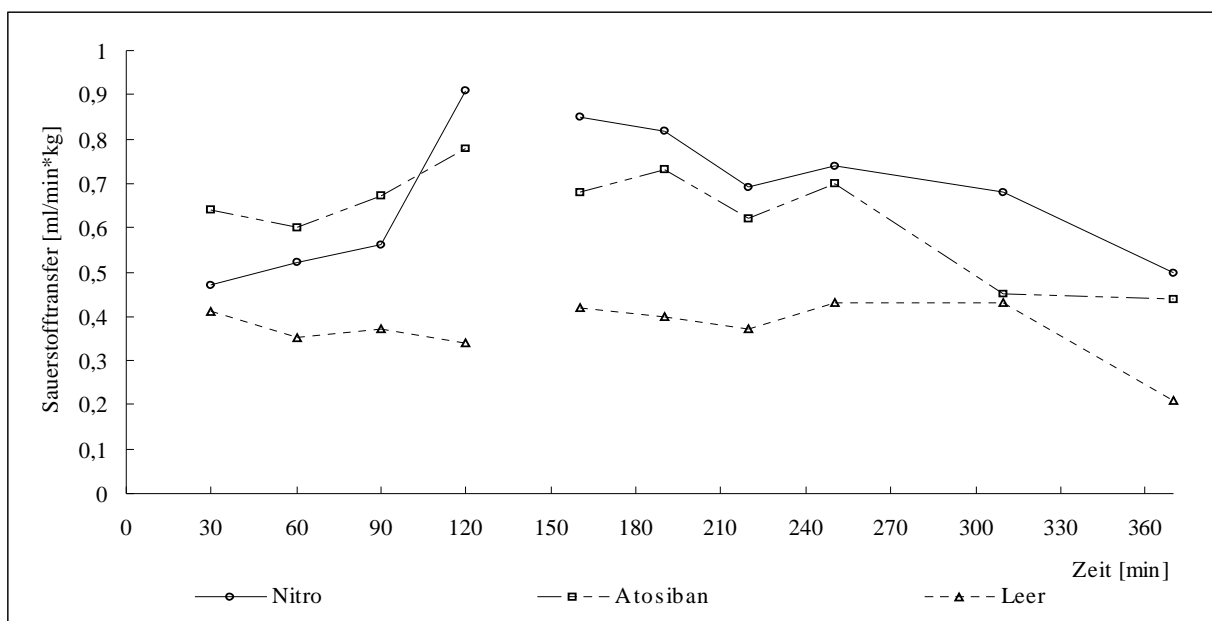


Abbildung 20 Sauerstofftransfer vom maternalen zum fetalen Kreislauf in den Perfusionen mit Nitroglyzerin und Atosiban und in den Leerperfusionen, Phase 0-120 ohne Medikamenteneinfluß

4.2.8. Nitroglyzeringehalt und -transfer

Die Konzentration des Nitroglyzerins wurde sowohl im maternalen als auch im fetalen Kompartiment bestimmt. Auf diese Weise konnte der Transfer des Medikaments in den Kreislauf des Feten bestimmt werden.

Es zeigte sich ein rascher Übertritt des Nitroglyzerins in den fetalen Kreislauf. Dabei war nach zehn Minuten die mütterlichen Ausgangskonzentration um 5 % und nach 50 Minuten bereits um 50 % gesunken. Im fetalen Kompartiment war die maximale Nitroglyzerinkonzentration nach ca. 90 Minuten (Minute 220) erreicht. Die Konzentrationen entlang der plazentaren Austauschmembran befanden sich nach 120 Minuten im Equilibrium (Minute 250) und fielen dann äquidistant in beiden Kreisläufen langsam ab. Dieser Abfall in den letzten zwei Stunden weist auf eine Metabolisierung des Nitroglyzerins hin. Hinzu kommt, dass die Summe der Konzentrationen im maternalen und fetalen Kreislauf zunehmend geringer als die ursprüngliche maternale Konzentration zum Zeitpunkt 130 wurde. Dieses Phänomen kann in einer schnellen Metabolisierung des Nitroglyzerins oder einer Anreicherung im Gewebe begründet sein.

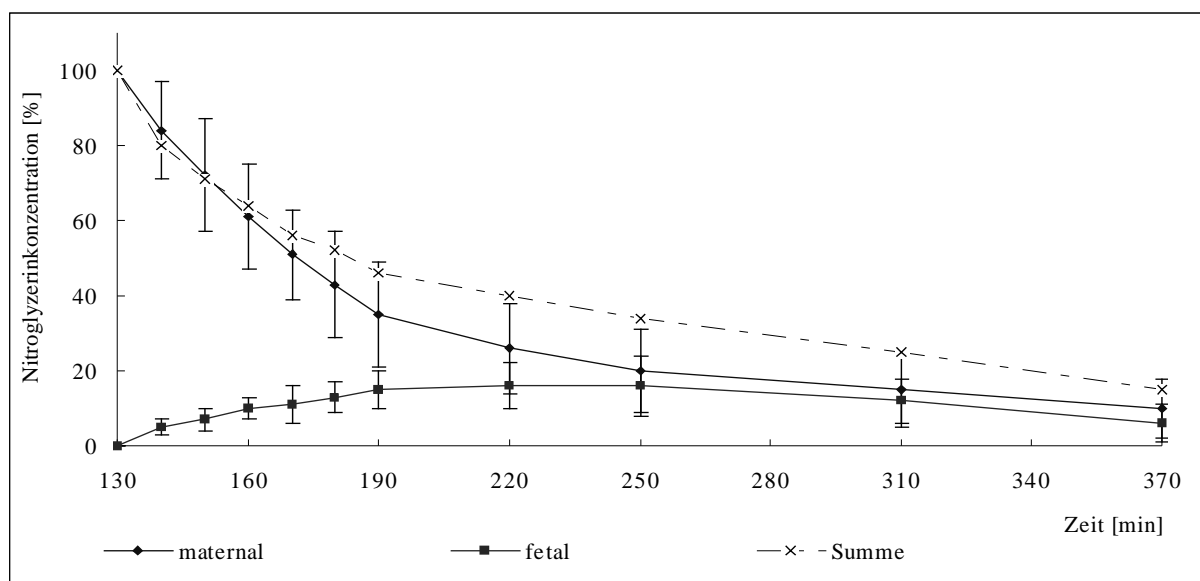


Abbildung 21 Nitroglyzerintransfer vom maternalen zum fetalen Kreislauf, die Summe der Konzentrationen im fetalen und maternalen Kompartiment ist zusätzlich aufgetragen; Angaben in Prozent der Ausgangskonzentration

Das mittlere materno – fetale Verhältnis der venöse Nitroglyzerinkonzentration betrug nach zehn Minuten 1: 15 bei einer einmaligen Applikation von 2 µg/ml. Um das Transferverhalten der Plazenta beschreiben zu können, verwendeten wir die Standardsubstanzen Antipyrin und Kreatinin. Beide Stoffe demonstrieren zwei Extreme der Transportmechanismen. Während

das Antipyrin leicht diffundiert und der Transport flusslimitiert ist, permeiert das hydrophile Kreatinin nur langsam und sein Transport ist membranlimitiert. Die Abbildung 22 zeigt die Nitroglyzerinkonzentration als prozentualen Anteil der Gesamtkonzentration im maternalen und fetalen Perfusionsmedium im Vergleich zu dem Transferverhalten von Antipyrin und Kreatinin. Es zeigte sich deutlich, dass Nitroglyzerin die Plazentamembran vergleichbar schnell wie das Antipyrin passierte. Sein Transfer ist also ebenfalls flusslimitiert und erfolgt sehr wahrscheinlich per diffusionem.

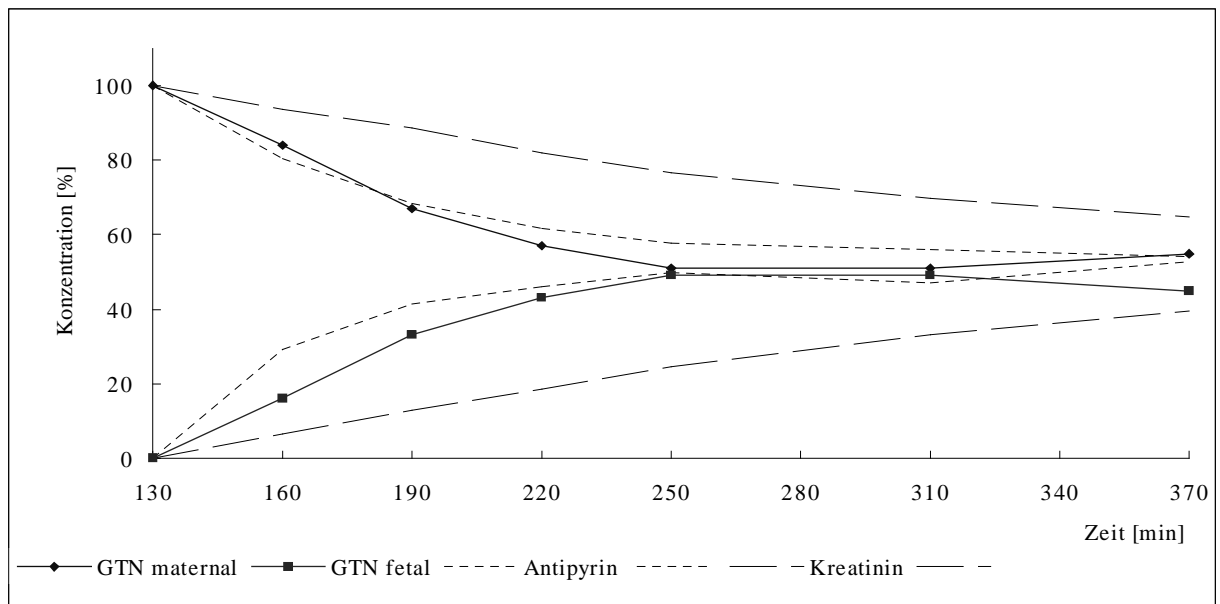


Abbildung 22 Vergleich des Transferverhaltens von Nitroglyzerin mit dem des Antipyrins und Kreatinins; Nitroglyzerinkonzentration als Prozent von der Gesamtkonzentration im Perfusionsmedium, Antipyrin und Kreatinin jeweils als Prozent der Ausgangskonzentration

4.2.9. Atosibangehalt und –transfer

Die Konzentrationen des Atosibans wurde sowohl im maternalen als auch im fetalen Kompartiment bestimmt. Auf diese Weise konnte der Transfer des Medikamentes in den Kreislauf des Feten ermittelt werden. Es zeigte sich ein langsamer Übertritt des Atosibans in den fetalen Kreislauf. Dabei waren nach 370 Minuten 14 % der mütterlichen Ausgangskonzentration in das fetale Kompartiment übergetreten. Während der vier Stunden Atosibanperfusion entstand kein Equilibrium der Konzentrationen entlang der plazentaren Austauschmembran. Die Summe der Konzentrationen im maternalen und fetalen Kreislauf am Ende der Perfusion war geringfügig niedriger als die ursprüngliche maternale Konzentration zum Zeitpunkt 130.

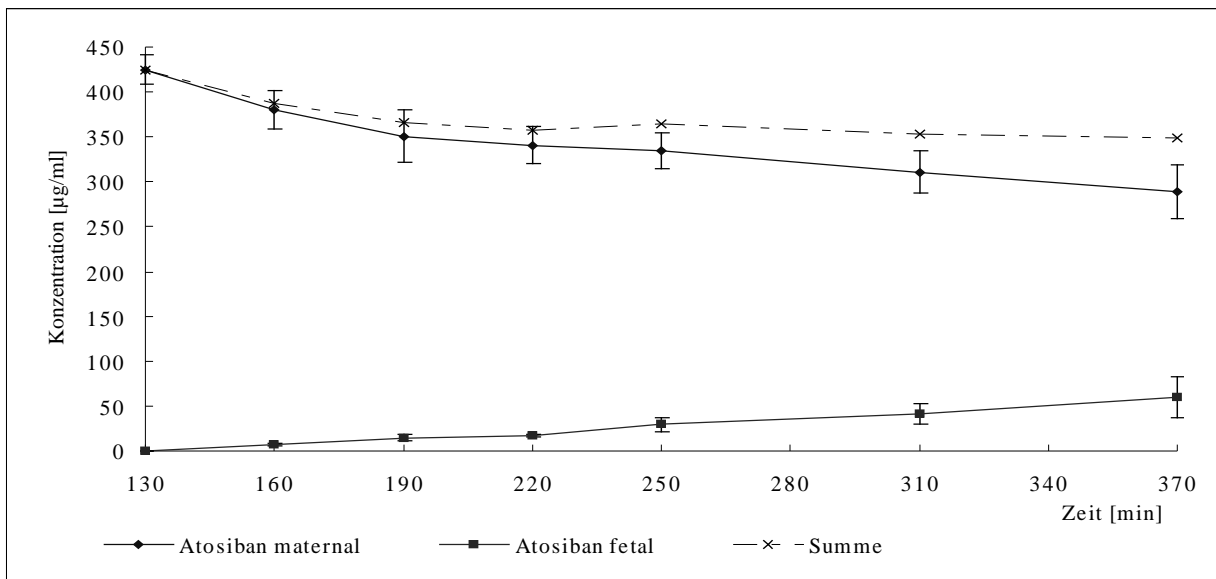


Abbildung 23 Atosibantansfer vom maternalen zum fetalen Kreislauf, die Summe der Konzentrationen im fetalen und maternalen Kompartiment ist zusätzlich aufgetragen; Angaben in Prozent der Gesamtkonzentration

Diese Beobachtung könnte durch eine Metabolisierung oder Anreicherung des Atosibans im Gewebe erklärt werden, die jedoch geringer als beim Nitroglyzerin war. Beim Vergleich der Transferkurven des Atosibans mit denen des Antipyrins und Kreatinin zeigte sich, dass Atosiban einem ähnlichen Transfermechanismus wie Kreatinin unterworfen ist. Die Permeation des Atosibans ist membranlimitiert.

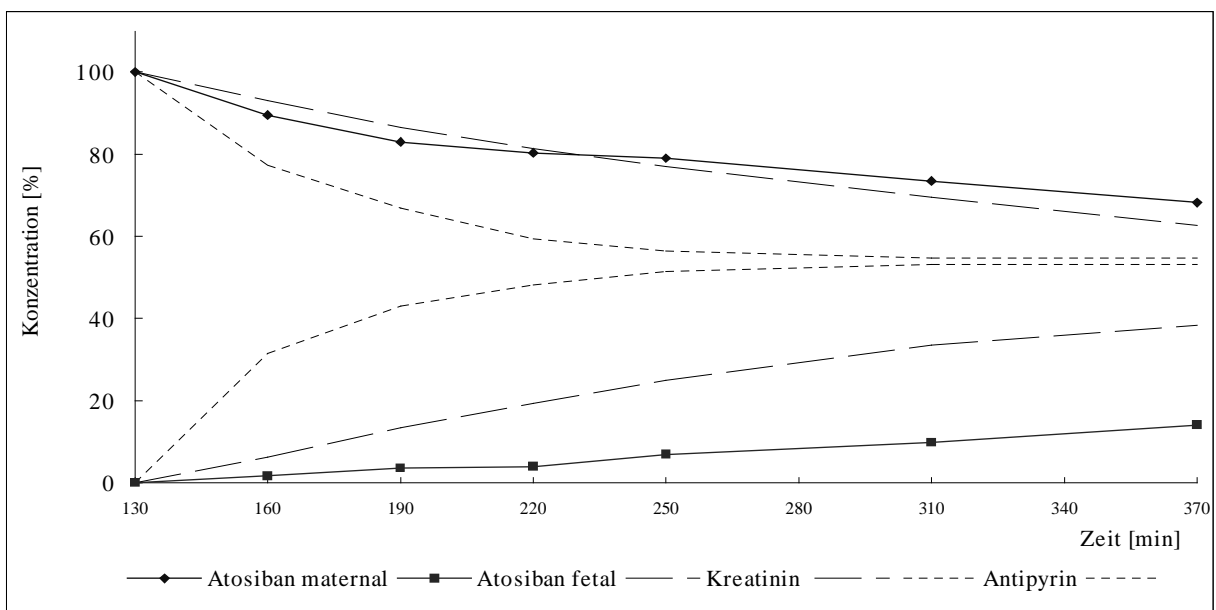


Abbildung 24 Vergleich des Transferverhaltens von Atosiban mit dem des Antipyrins und Kreatinins; Atosibankonzentration als Prozent von der Gesamtkonzentration im Perfusionsmedium, Antipyrin und Kreatinin jeweils als Prozent der Ausgangskonzentration

4.2.10. Perfusionsdruck

Der Verlauf der Perfusionsdruckkurve der Leerperfusion zeigte im zuführenden Schenkel (arteriell) des fetalen Kreislaufs keine signifikanten Veränderungen während der sechs Stunden dauernden Experimente. Während der Perfusion mit Nitroglyzerin fiel der fetale arterielle Druck (Minute 130-250) im Vergleich zur Kontrollperfusion (Minute 0 – 120) signifikant ($p \leq 0,01$) ab (siehe Abbildung 25). Im Mittel fiel der Druck um 1,7 mmHg. Das entsprach 2,6 % des Ausgangsdrucks zum Zeitpunkt Null. Erst nach zwei Stunden Nitroglyzerinperfusion stieg der Druck wieder an. Der Anstieg des Perfusionsdrucks in den letzten beiden Stunden zeigte jedoch keine Signifikanz ($p = 0,103$) und korrelierte deutlich mit der Abnahme der Nitroglyzerinkonzentration im Perfusionsmedium (siehe Abbildung 26).

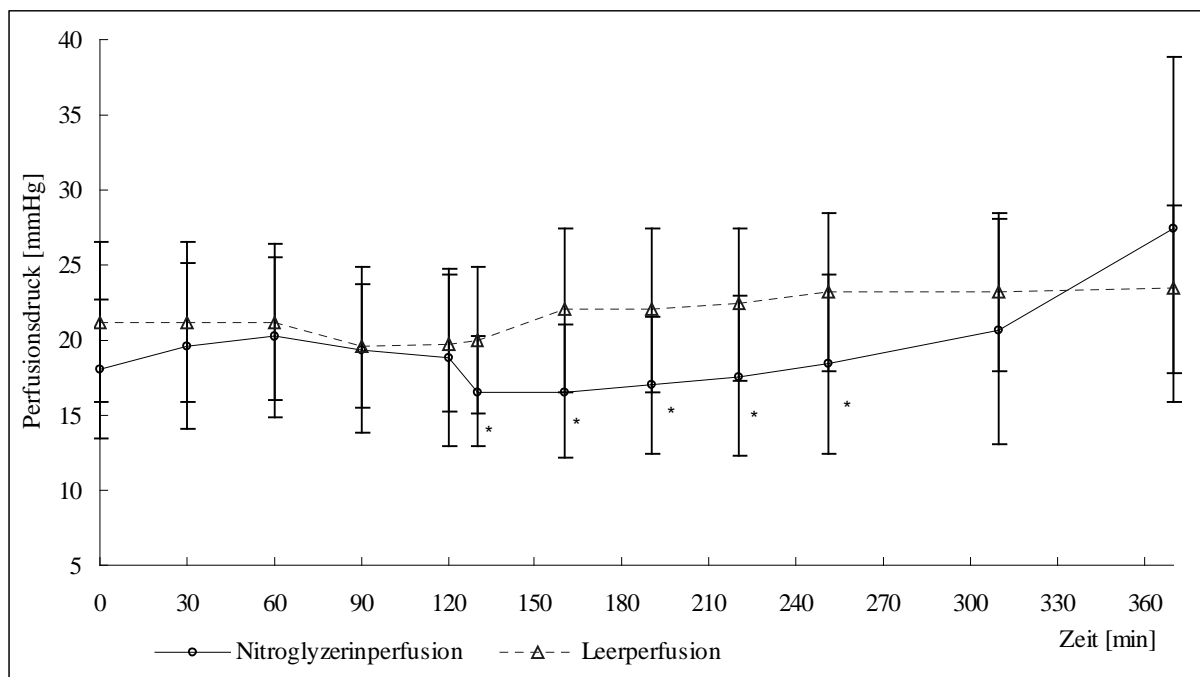


Abbildung 25 Perfusionsdruck im fetalen Kreislauf während der Nitroglyzerinperfusionen; * kennzeichnet signifikante Perfusionsdruckerniedrigung $p \leq 0,01$

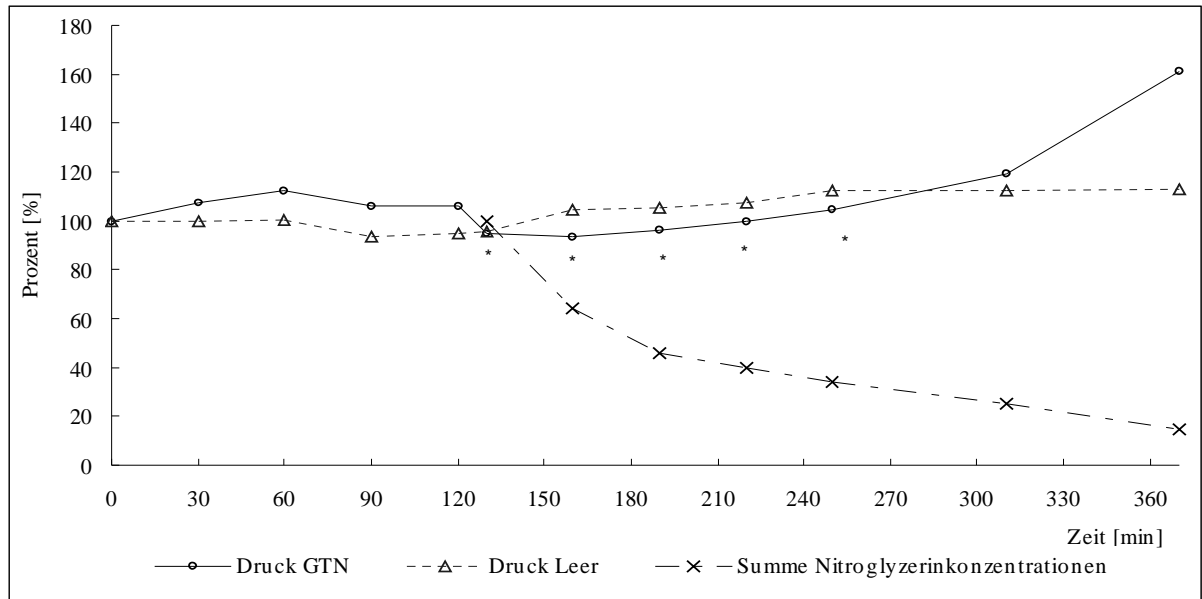


Abbildung 26 Veränderungen des Perfusionsdrucks korrelieren mit der Nitroglyzerinkonzentration; Angaben in Prozent des Ausgangswertes bzw. der Gesamtkonzentration; * hochsignifikant $p \leq 0,01$

In der Abbildung 27 erkennt man deutlich die Erhöhung des Sauerstofftransfers vom maternalen zum fetalen Kreislauf über die Gesamtdauer der durch Nitroglyzerin verursachten Erniedrigung des Perfusionsdrucks im fetalen arteriellen Schenkel. Diese Verbesserung der fetalen Sauerstoffversorgung erreichte in unseren Versuchen jedoch das Signifikanzniveau nicht.

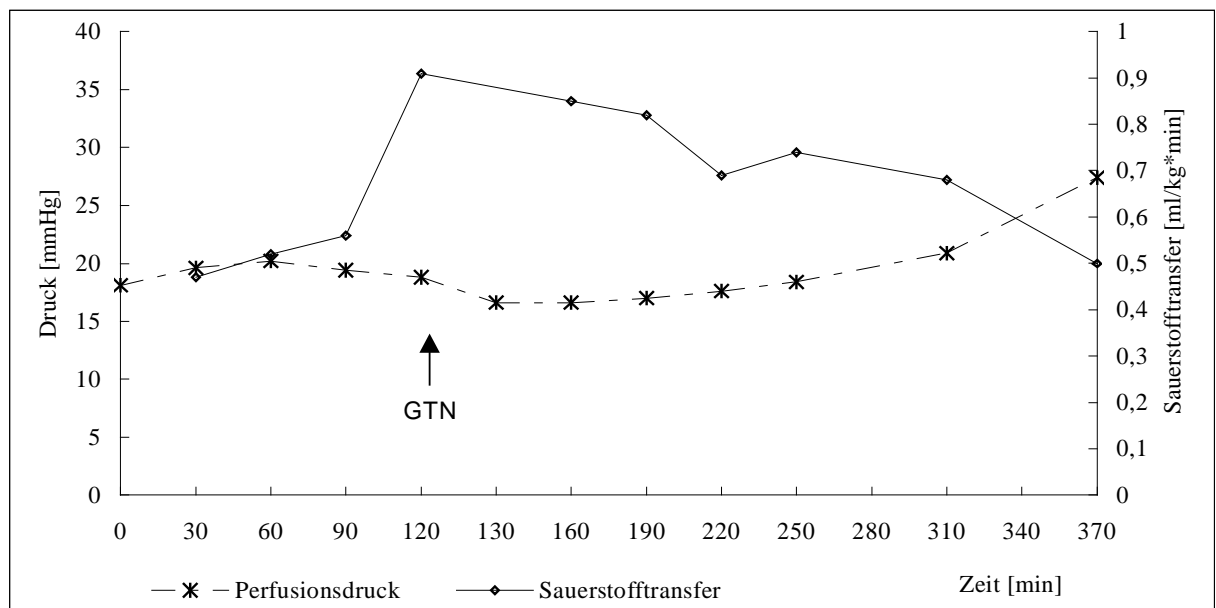


Abbildung 27 Sauerstofftransfer in Abhängigkeit vom Perfusionsdruck im fetalen arteriellen Schenke; GTN markiert mit Pfeil den Zeitpunkt des Wechsels der Perfusionslösung und der Nitroglyzerinapplikation

Während der Perfusionen mit Atosiban fand sich keine signifikante Veränderung des Perfusionsdrucks im zuführenden Schenkel des fetalen Kreislaufs. In der Abbildung 28 ist die Ähnlichkeit der Druckverlaufskurven während der Perfusion ohne Medikament und der Atosibanperfusion deutlich zu erkennen. Atosiban beeinflusste die Kontraktilität der plazentaren Gefäßstrombahn bei der extrakorporalen Kotyledonperfusion nicht.

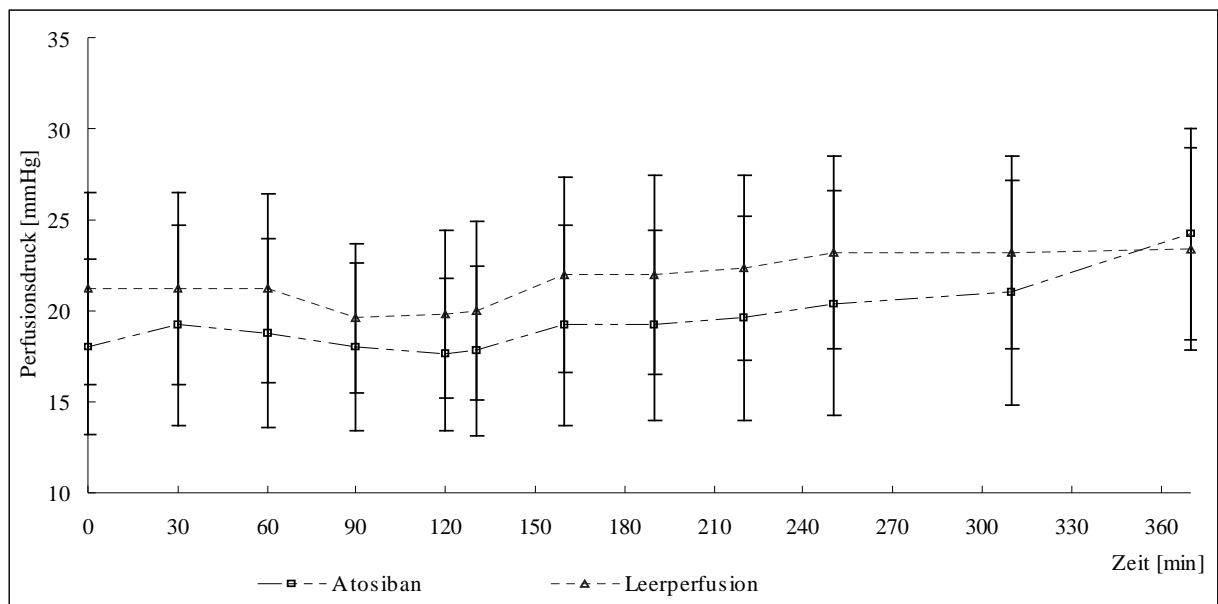


Abbildung 28 Perfusionsdruck im fetalen Kreislauf während der Atosibanperfusionen

5. Diskussion

Medikamente, die in der Schwangerschaft appliziert werden, können neben den meist bekannten Nebenwirkungen auf die Mutter auch unerwünschten Einfluss auf das ungeborene Kind haben. In vielen Fällen gibt es keine kontrollierten Studien über die Anwendung von Pharmaka in der Schwangerschaft und ein Großteil der Erfahrungen basiert auf akzidentiellen Einnahmen in Einzelfällen. In der Vergangenheit aufgetretene Verordnung von Medikamenten mit im Nachhinein aufgetretenen Fehlbildungen in der Schwangerschaft wie zum Beispiel Contergan, führte zu einer zunehmenden Zurückhaltung bei der Pharmakotherapie in der Schwangerschaft. Trotz aller Vorsicht sind bei vorzeitiger Wehentätigkeit oder schwerer Präeklampsie aus medizinischen Gründen Medikamente zum Schutz und Nutzen des noch Ungeborenen und der Mutter indiziert. Dennoch liegt es im Interesse aller Beteiligten den Feten so wenig wie möglich zu schädigen. Aus diesem Grund sollte vor der breiten klinischen Anwendung der neuen Tokolytika Nitroglyzerin und Atosiban das potentielle Risiko für den Feten evaluiert werden. Die in vitro Plazentaperfusion bietet gute Voraussetzungen die Mutter-Kind-Passage und mögliche Nebenwirkungen auf den plazentaren Metabolismus zu untersuchen. Im Vordergrund der vorliegenden Arbeit stand daher die experimentelle Bestimmung des transplazentaren Übertritts der erwähnten Pharmaka in das fetale Kompartiment.

Die Mutter-Kind-Passage des Nitroglyzerins erfolgt rasch und Flusslimitiert, wohingegen das Atosiban die Plazentamembran nur langsam permeiert.

Bisher gibt es nur eine in vivo Studie zum Transferverhalten des Nitroglyzerins. David et al. (2000) hatten den materno-fetalen Transfer von Nitroglyzerin während 62 abdominalen Schnittentbindungen untersucht. Er bestimmte ein dosisabhängiges feto-maternales Konzentrationsverhältnis von 1:420 und 1:195 eine Minute nach einer Bolusinjektion von 0,25 mg bzw. 0,5 mg Nitroglyzerin. In Davids Untersuchungen wird neben dem raschen Übertritt in den Feten ein deutlicher Abfall der Gesamtnitroglyzerinkonzentration erkennbar.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Nitroglyzerin bei der in vitro Perfusion eines Kotyledons die Plazenta schnell permeiert und nach ca. 90 Minuten ein Equilibrium der Konzentrationen im maternalen und fetalen Kompartiment erreicht wird. Dabei ergab sich ein feto-maternales Konzentrationsverhältnis von 1:15 zehn Minuten nach Bolusapplikation von 2 µg/ml Nitroglyzerin in das maternale Kompartiment. In der vorliegenden Arbeit wurde das Transferverhalten von Nitroglyzerin mit denen des lipophilen Antipyrin und des hydrophilen Kreatinins verglichen. Da die Konzentrationsverlaufskurven

des Nitroglycerins denen des Antipyrins ähnlich sind, kann man annehmen, dass Nitroglycerin die Plazentamembran ebenfalls Flusslimitiert permeiert. Dem könnten vergleichbare physiko-chemische Eigenschaften wie kleine Molekülgröße und Lipophilie zugrunde liegen und den Transportmechanismus der einfachen Diffusion wahrscheinlich machen.

Betrachtet man die Gesamtnitroglycerinkonzentration im maternalen und fetalen Kompartiment, wird die schnelle Abnahme desselben deutlich. Der rasche Transfer und die Abnahme der Gesamtkonzentration stimmt mit den Ergebnissen von David et al. (2000) überein. Die stetige Reduktion der Summe der Nitroglycerinkonzentration kann durch eine schnelle Metabolisierung oder möglicherweise auch durch eine Anreicherung im Gewebe erklärt werden. Aufgrund dessen gelangt innerhalb von zwei Stunden ein relativ geringer Teil des Nitroglycerins in das fetale Kompartiment, nämlich knapp 20 % der Ausgangskonzentration im maternalen Kreislauf. Nitroglycerin wird zu Beginn schnell aus dem maternalen Kompartiment entfernt und im Plazentagewebe metabolisiert, dem folgt ein langsamerer Abfall der Gesamtnitroglycerinkonzentration nach etwa 60 Minuten. Der Grund für dieses Verhalten könnte eine unterschiedliche Metabolisationsrate im maternalen Plazentagewebe (am Anfang die einzige Verstoffwechslung) und in den fetalen Gefäßendothelien sein.

Im Gegensatz zum Nitroglycerin zeigt das Atosiban ein gänzlich anderes Transferverhalten. Atosiban wird nur langsam aus dem maternalen Kreislauf eliminiert und erreicht in entsprechend geringen Konzentrationen das fetale Kompartiment. Dabei wird nach vier Stunden Kotyledonperfusion kein Equilibrium der Konzentrationen entlang der humanen Plazentamembran erreicht. Nach einer zweistündigen Perfusion erreichen etwa 6,9 % Atosiban, gemessen an der maternalen Ausgangskonzentration, das fetalen Kompartiment. Nach vier Stunden befinden sich 14 % Atosiban im fetalen Kreislauf. Die langsame transplazentare Passage von Atosiban und geringe Akkumulation im fetalen Kreislauf stimmt mit den Ergebnissen von Valenzuela et al. (1995) überein. Valenzuela et al. fanden in vivo 200-440 Minuten nach Therapiebeginn mit Aosiban, dass nur $12,4 \pm 2,5$ % der maternalen Serumkonzentration Atosiban die Umbilikalvene des Feten erreicht hatten. Greig et al. (1993) fanden eine mittlere Eliminationshalbwertszeit von Atosiban im maternalen Kompartiment von 17 Minuten bei instrumentierten trächtigen Schafen. Bei pharmakokinetischen Studien an Affen [Nathanielsz et al. 1997] wurden die genannten Ergebnisse bestätigt. Bisher gibt es keine Untersuchung zur transplazentaren Passage von Atosiban im in vitro Modell der rezirkulierenden Perfusion eines isolierten

Plazentakotyledons. Wegen der engen strukturellen Verwandschaft von Oxytocin und Atosiban kann man von einem ähnlichen Transferverhalten der Substanzen ausgehen. Malek et al. (1996) haben mittels des auch in der vorliegenden Arbeit verwendeten Perfusionsmodells die Plazentapassage von Oxytocin studiert. Sie konnten einen sowohl vom maternalen ins fetale Kompartiment als auch in die Gegenrichtung stattfindenden Oxytocintransfer aufzeigen. Dabei zeigte sich, dass nach zweistündiger Perfusion $12,75 \pm 3,87$ % der maternalen Oxytocinkonzentration zu Beginn der Perfusion das fetale Kompartiment erreichen. Dieses Ergebnis liegt geringfügig höher als der von uns bestimmte Wert für Atosiban nach zwei Stunden. Wie auch bei der Atosibanperfusion fanden Malek et al. (1996a) eine geringere Gesamtoxytocinkonzentration am Ende der Perfusionen, die sich mit einer Verstoffwechslung oder Anreicherung des Peptids im Gewebe erklären ließe. Eine nennenswerte Metabolisierung von Oxytocin durch Enzyme im plazentaren Gewebe wird von Malek et al. ausgeschlossen. Bestimmungen mit der HPLC ergaben, dass 90 % vollständiges und nur 5-7 % kleinere Fragmente radioaktiven Oxytocins das fetale Kompartiment erreichen. Demzufolge ist eine Anreicherung im Plazentagewebe anzunehmen, die vor allem während der ersten 30 Minuten zur Elimination des Oxytocins bzw. Atosibans im maternalen Kompartiment beiträgt und im weiteren eine Sättigung zu erreichen scheint. Denkwürdig wäre eine Bindung an lokale Proteine. Eine Bindung an Erythrozyten oder Plasmabindungsproteine kann in den Perfusionsexperimenten ausgeschlossen werden, weil weder Vollblut noch humanes Plasma verwendet wurde.

Malek et al. gehen von einer einfachen Diffusion des Oxytocins in beide Richtungen in der Plazenta aus. Trotz ähnlicher Molekulargewichte von Oxytocin (1000 Dalton) und Atosiban (993,5 Dalton), kann für das Atosiban nicht von einem Transfer per diffusionem ausgegangen werden. Das Atosiban ist als Azetat-Salz in Form eines weißen Pulvers erhältlich und lässt sich leicht in Wasser lösen. Das unterstreicht den hydrophilen Charakter des Atosibans. Für eine ungehinderte Diffusion durch biologische Membranen ist neben einem geringen Molekulargewicht bis zu 5000 Dalton auch die Lipophilie bzw. der Grad der Ionisation entscheidend. Vergleicht man das Transferverhalten des Atosibans mit dem des lipophilen Antipyrins und des hydrophilen Kreatinins, zeigt sich, dass die Konzentrationsverlaufskurven (siehe Abbildung 24) des Atosibans denen des Kreatinins ähneln. Daher kann bei dem Plazentatransfers des Atosibans von einem membranlimitierenden Übertritt ausgegangen werden.

Es ist bekannt, dass Oxytocin am Ende der Schwangerschaft im Feten höhere Konzentrationen erreicht als im mütterlichen Blut [Dawood et al., 1978]. Neben der Hemmung der Oxytocinwirkung könnte Atosiban auch durch Blockade des Vasopressinrezeptors V_1 Einfluss auf die Vasomotorik nehmen [Bossmar et al. 1994]. Mögliche kardiovaskulären Wirkung auf die Mutter, aber vor allem auch auf den Feten werden jedoch in der Literatur ausgeschlossen. Im Tierexperiment [Nathanielsz et al., 1997; Greig et al., 1993] zeigte sich keinerlei Einfluss auf das Herz-Kreislaufsystem bei Affen- und Schaffeten. Einige klinische Studien zeigen ebenfalls keine signifikanten Veränderungen von Herzfrequenz und Blutdruck während der Atosibanapplikation. Andere klinische Untersuchungen im Vergleich zur β -Sympathomimetikatherapie konnten deutlich geringere Nebenwirkungen aufzeigen [Goodwin et al. 1994, Silver et al. 1997, The world wide Atosiban versus Beta-agonists Study Group 2001]. In der vorliegende Arbeit können vergleichbare Ergebnisse auf den Plazentastoffwechsel berichtet werden. In den durchgeführten Experimenten beeinflusste Atosiban den Perfusionsdruck in den fetalen zuführenden (arteriellen) Gefäßen nicht. Dies ist zurückzuführen auf das Fehlen von Oxytocin- und Vasopressinrezeptoren in den placentaren fetalen Gefäßen oder auf eine unerschwellige Atosibankonzentration im fetalen Kompartiment. Im letzteren Falle könnte die langsame und geringe Mutter-Kind-Passage des Atosibans ursächlich sein. Daraus ließe sich für das Atosiban eine relative Plazentabarriere postulieren, die den Feten vor dem Einfluss des Pharmakons schützt.

Im Gegensatz zum Atosiban führt maternal appliziertes Nitroglyzerin zu einer deutlichen Vasorelaxation in den fetalen arteriellen Gefäßen während der Plazentaperfusion. Dabei korreliert die Reduktion des fetalen Perfusionsdrucks mit der Nitroglyzerinkonzentration im Perfusionsmedium. Die rasche Elimination des Nitroglyzerins aus den Perfusionsmedien führt zu einem erneuten Druckanstiegs. Eine vergleichbare gefäßerweiternde Wirkung des Nitroglyzerins wurde in der Vergangenheit bereits durch Reiber et al. (1984) und Nöschel et al. (1982) bei der zweiseitigen in vitro Perfusion der Plazenta beobachtet.

In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass der endothelium derived relaxing factor NO auch bei der placentaren und umbilikalen Gefäßregulation von Bedeutung ist. Van de Voorde et al. (1987) beobachteten die NO-Freisetzung in Umbilikalgefäßen und später konnte die NO-Synthetase immunohistochemisch im Umbilikalgefäß-, Chorionplatten- und Stammzottenendothel lokalisiert werden [Myatt et al. 1993]. Der Einfluss des Nitroglyzerins auf die Blutgefäßrelaxation ist in einer NO-Freisetzung nach Nitroglyzerinapplikation

begründet [Marks et al. 1992, Ignarro et al. 1987]. Verschiedene Autoren konnten zeigen, dass NO eine bedeutende Rolle bei der Erhaltung des physiologisch niedrigen fetalen Gefäßtonus im perfundierten humanen Plazentakotyldon spielt [Myatt et al. 1991, King et al. 1995]. Neben dem Erhalt des niedrigen Basaltonus der fetalen Gefäße schwächt NO die Wirkung von Vasokonstriktoren auf fetale Plazenta- und Chorionplattengefäße ab [Myatt et al. 1992, Gude et al. 1992].

Nach Untersuchungen von Byrne et al. (1997) beeinflusst Nitroglyzerin den basalen Perfusionsdruck nicht, so dass sie vermuteten, dass die basalen NO-Freisetzung bereits zu einer maximalen Gefäßerweiterung in der perfundierten humanen Plazenta führte. Tatsächlich untersuchte eine Anzahl von Autoren die gefäßrelaxierende Wirkung des Nitroglyzerin nachdem sie die Plazentagefäße mit Vasokonstriktoren artifiziell verengten [Howard et al. 1987, Myatt et al. 1992, Gude et al. 1992]. Alle fanden hier eine gegenüber anderen Vasorelaxantien herausragende erweiternde Wirkung des Nitroglyzerins. Im Gegensatz zu Byrne et al. (1997) konnten wir wie bereits Nöschel et al. (1982) eine konzentrationsabhängige Reduktion des fetalen arteriellen Perfusionsdrucks finden, die auf die NO vermittelte Gefäßrelaxation zurückgeführt wird. Der Grund für die differenten Ergebnisse könnte auf Unterschiede in der Methodik der Autoren liegen. Anders als in den von mir durchgeführten Experimenten applizierten Byrne et al. (1997) Nitroglyzerin direkt in den fetalen Kreislauf nachdem der in vitro perfundierte Kötyledon einer 20 Minuten dauernden Hypoxie ausgesetzt war. Eine akute Erniedrigung des maternalen Sauerstoffdrucks induziert eine sofortige fetoplazentare Vasokonstriktion, was zu der Annahme führte, dass die hypoxische fetale Gefäßkonstriktion zur lokalen Regulation der Blutumverteilung in vivo beiträgt. Auch Byrne et al. kommen zu dem Schluß, dass eine maternale Hypoxie in den korrespondierenden Gefäßen auf der fetalen Seite der Plazenta zu einer Konstriktion führt. Dies trage zu einer sinnvollen Umverteilung des fetalen plazentaren Blutflusses in sauerstoffreiche Areale bei. Auf diese Weise würde die Sauerstoff- und Nährstoffausschöpfung in der Plazenta optimiert werden und eine Sauerstoffpartialdruckreduktion im fetalen Kreislauf verhindert werden. Byrne et al. nehmen einen vergleichbaren Mechanismus wie die hypoxischen Vasokonstriktion in der Lunge an und zeigen eine Erniedrigung des Sauerstofftransfer vom maternalen in den fetalen Kreislauf nachdem L-NAME, Nitroglyzerin oder beide Substanzen in das fetalen Kompartiment appliziert wurde.

In den Experimenten der vorliegenden Arbeit zeigte sich jedoch eine Zunahme des Sauerstofftransfers in das fetale Kompartiment nach maternaler Nitroglyzerinapplikation, die

sich zeitlich mit der Reduktion des fetalen arteriellen Perfusionsdrucks deckte (siehe Abbildung 27). Im Gegensatz zu Byrne et al. (1997) wurde in diesen Experimenten das Nitroglyzerin in den maternalen Kreislauf appliziert, so wie auch bei einer klinischen Anwendung des Pharmakons. Zudem wurde das Sauerstoffangebot im maternalen Kreislauf konstant gehalten und keine Hypoxie induziert. Der konstante maternale Sauerstoffpartialdruck verhindert eine hypoxische fetale Vasokonstriktion und bereitet vielmehr den Weg für eine fetale Gefäßrelaxation nach Zufuhr des externen NO-Donors, die Ausdruck der Perfusionsdruckerniedrigung ist. Bei einer Nitroglyzerinapplikation in das maternale Kompartiment kommt es nicht zu inkongruenten fetalen und maternalen Perfusionsarealen entlang der plazentaren Austauschmembran. Aufgrund dessen kann die Gefäßrelaxation durch Nitroglyzerin zu einem gesteigerten Stoffaustausch in der Plazenta führen, weil die Relaxation der Gefäße zu einer verlangsamten Fließgeschwindigkeit des Perfusionsmediums an der Austauschfläche bei konstant gehaltenen Fluss in den zuführenden fetalen Kanülen im in vitro Perfusionsmodell führt. Dies bedeutet eine Verlängerung der Verweildauer an der plazentaren Austauschmembran mit der Folge der gesteigerten Diffusion von Sauerstoff. Diese Annahme deckt sich mit den Ergebnissen, die eine Korrelation zwischen Sauerstofftransfer und Perfusionsdruckerniedrigung in den Nitroglyzerinperfusionsen zeigen. Im Vergleich dazu bleibt der Sauerstofftransfer unter Atosiban konstant, ebenso wie der fetale arterielle Perfusionsdruck in diesen Experimenten.

Die Lebensfähigkeit eines in vitro untersuchten Gewebes kann anhand seiner Stoffwechselaktivität gemessen werden. Ein kontinuierlicher Verbrauch an Glukose und die Produktion von Laktat beweisen die metabolische Aktivität der in vitro perfundierten Plazentakotylosedone auch in Langzeitperfusionsen [Malek et al. 1997, Polliotti et al. 1996]. Die Freisetzung von Humanen Choriongonadotropin (β -HCG) ist ein direkter Indikator der Stoffwechselaktivität des Trophoblasten [Cannell et al. 1988]. Neben der grundsätzlichen Fragestellung nach der Lebensfähigkeit sind die Bestimmungen der verschiedenen Stoffwechselparameter des Plazentagewebes unter dem Einfluss von Medikamenten eine Möglichkeit toxische Wirkungen der verwendeten Pharmaka zu beurteilen. Zudem spielt der plazentare Glukoseverbrauch und -transfer eine entscheidende Rolle bei der nutritiven Versorgung des Feten in vivo, so dass Veränderungen in diesem Bereich zu einer Beeinflussung des ungeborenen Kindes führen können. Die Beurteilung des Glukose-Laktat-Stoffwechsels und die Proteinsyntheseleistung im Modell der in vitro perfundierten

Plazentakotyledone kann so wesentliche Aussagen zur Sicherheit von untersuchten Medikamenten geben.

In den Experimenten der vorliegenden Arbeit hatten Nitroglyzerin und Atosiban keinen signifikanten Einfluss auf den Glukosestoffwechsel und die Synthese des β -HCGs im Vergleich zu den Leerperfusionen. Der Glukoseverbrauch unter oxigenierten Verhältnissen ist in den Versuchen dieser Arbeit vergleichbar mit vorangegangenen Studien [Challier et al. 1985, Miller et al. 1985]. Die Laktatproduktion steigt und fällt mit dem Glukoseverbrauch und zeigt keine signifikanten Unterschiede zu Perfusionen mit reiner Perfusionslösung wie in den durchgeführten Leerperfusionen oder Langzeitperfusionen von Cannell et al. (1988) und Miller et al. (1985). Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Versorgung des Feten bei der Nitroglyzerin- und Atosibanapplikation und in vivo nicht beeinflusst werden dürfte.

Die Energiegewinnung aus Glukose kann einerseits durch die anaerobe Glykolyse und andererseits durch die oxidative Phosphorylierung stattfinden. Der anaerobe Glykolyse kommt dabei die größere Bedeutung bei der Energiebereitstellung im Plazentagewebe während der in vitro Perfusion zu [Schneider et al. 1981]. Malek et al. (1996b) konnten zeigen, dass eine Hemmung der anaeroben Glykolyse mit Iodoacetat zu einer Störung des Energiegleichgewichts führte und von einem Zusammenbrechen der Barrierefunktion mit einem massiven Leck für die Perfusionslösung gefolgt wurde. Die Proteinsyntheseleistung kam in den untersuchten Plazentakotyledonen vollständig zum Erliegen. Auch eine Untersuchung von Bloxam et al. (1986) zeigte eine zerstörte Barrierefunktion der Plazenta mit Verlust von intrazellulären Kalium nach einer Verschlechterung des Energiestatus mit verminderter ATP-Synthese.

Malek et al. (1996c) berichtete, dass die Glykolyse der die größte Menge Energie produzierende Stoffwechselweg in der Plazenta ist. Dabei stellten sie fest, dass mehr als die Hälfte der uterinen Glukose- und Sauerstoffaufnahme der plazentaren metabolischen Leistungen zugute kommt. Sinkt der Sauerstoffdruck, so wird Glukose vermehrt durch anaerobe Glykolyse und weniger durch oxidative Phosphorylierung verstoffwechselt und ist dann mit einer höheren Laktatproduktion verknüpft [Kay et al. 1997]. In den Experimenten der vorliegenden Arbeit ist das Sauerstoffangebot jedoch konstant. Dementsprechend niedrig ist auch die Laktatkonzentration in den fetalen und maternalen Kompartimenten. Die im Vergleich zum Glukoseverbrauch niedrige Laktatproduktion im fetalen Kreislauf reflektiert möglicherweise eine Verschiebung der oxidativen Energiebereitstellung und damit den Verbrauch unterschiedlicher endogener Quellen wie Azetat oder Aminosäuren und stimmt mit

Untersuchungen überein, die zeigten, dass nur 10 % der exogen zugeführten Glukose für die Laktatproduktion im Plazentaperfusionsmodell verbraucht werden [Challier et al. 1985].

In vivo Untersuchungen zu antagonistischen Effekten des Oxytocinantagonisten Atosiban auf die Serumglukosekonzentration in gesunden nichtschwangeren Probanden konnten zwar einen leichten Anstieg des Blutzuckers vier Minuten nach Injektion zeigen, jedoch war diese Veränderung nicht signifikant im Vergleich zu den vorbestehenden Blutglukosewerten der Freiwilligen [Eriksson et al. 1990]. Bei in vivo Studien am Menschen kommt die Beeinflussung von Stoffwechselwegen in andere Organen wie etwa der Leber hinzu, die mit dem Plazentaperfusionsmodell nicht erfaßt werden können. Im Plazentagewebe hatte die Anwesenheit von Atosiban keinen Einfluss auf den Glukose-/Laktatstoffwechsel.

Klinischen Studien zur tokolytischen Wirksamkeit des Nitroglyzerin bei vorzeitiger Wehentätigkeit berichteten von maternaler Hypotension unter der Therapie mit dem aus der Kardiologie bekannten NO-Donor [Schleußner et al. 2001, Lees et al. 1999, El Sayed et al. 1999, Smith et al. 1999]. Bei Untersuchungen an instrumentierten schwangeren Schafen konnte ebenfalls ein signifikanter Abfall des maternalen mittleren arteriellen Blutdruck während der Nitroglyzerininfusionen festgestellt werden [Bootstaylor et al. 1997]. Entgegen der Annahme, dass dies zu einer verminderten Durchblutung der Arteria uterina führen könnte und infolge dessen zu einer Gefährdung des Fötus, fanden die Autoren keine negativen Einflüsse auf den fetalen Kreislauf oder auf die fetale Sauerstoff-, Laktat- oder Glukoseaufnahme.

Die Gegenwart von Nitroglyzerin oder von Atosiban hatte keinen Einfluss auf die plazentare Freisetzung des Humanen Choriongonadotropins (β -HCG) während der vierstündigen Dauer der Perfusionen. Dabei decken sich die Ergebnisse mit den Daten anderer Autoren, die die Hormonsekretionsrate unter oxigenierten Bedingungen bestimmten [Kay et al. 1997, Cannell et al. 1988]. Die konstante Sekretion des spezifischen Plazentahormons ist einerseits als Qualitätskriterium der in vitro Perfusion zu werten, andererseits zeigt es, dass weder Nitroglyzerin noch Atosiban mit den proteinbildenden Enzymen interagieren oder die Exozytose der intrazellulär liegenden Hormon speichernden Granula beeinflussen.

Boadie et al. (1992) beobachteten unter dem Einfluss von anorganischem Quecksilber nach sechs Stunden Inkubationszeit eine gesteigerte Exozytose des β -HCGs und nahmen eine Stimulation des Genoms an. In der vorliegenden Arbeit betrug die Expositionsdauer nach einer einmaligen Applikation der Pharmaka nur vier Stunden, so dass ein Einfluss auf die Genexpression nicht sicher beurteilt werden kann.

Die beiden Pharmaka Nitroglyzerin und Atosiban werden derzeit klinisch auf ihren Einsatz als Tokolytika bei vorzeitiger Wehentätigkeit getestet. Ihre gute Wirksamkeit und ihr geringes Nebenwirkungsspektrum könnten Wegbereiter für eine zukünftige breite klinische Anwendung sein. Es war daher das Anliegen der vorliegenden Arbeit den direkten Einfluss der beiden Medikamente im in vitro Perfusionsexperiment auf die Plazenta zu messen, welche eine bedeutende Rolle bei der fetalen nutritiven Versorgung spielt.

Beide zu untersuchenden Substanzen hatten in den durchgeführten Experimenten keine signifikanten Einflüsse auf den Metabolismus des zweiseitig in vitro perfundierten Plazentakotyledon bei vierstündiger Inkubation mit den Pharmaka. Die dabei untersuchten Parameter Glukoseverbrauch, Laktatproduktion, Sauerstoffverbrauch des placentaren Gewebes und die Sekretion des Humanen Choriongonadotropins erfuhren keine Veränderungen im gemessenen Zeitraum. Vielmehr sogar stehen diese Parameter für eine uneingeschränkte qualitative hochwertige Lebensfähigkeit und Funktion der placentaren Gewebebestandteile. Ein unverminderter Energiestoffwechsel in Form von vor allem anaerober Glykolyse, und die uneingeschränkte Fähigkeit der Trophoblasten das Plazenta spezifische Hormon β -HCG zu synthetisieren, zeigt, dass die Anwendung von Nitroglyzerin und Atosiban die Stoffwechselleistungen der Plazenta nicht verändern und somit die nutritive Versorgung des Feten diesbezüglich nicht verschlechtern. Nitroglyzerin scheint vielmehr den Sauerstofftransfer in das fetale Kompartiment zu verbessern. Nitroglyzerin, das bereits als blutdrucksenkendes Mittel bekannt ist und auch bei pectanginösen Beschwerden eingesetzt wird, kann nachweislich in oxygenierten Kotyledonperfusion die zuvor nicht artifiziell konstringierten Gefäße im fetalen arteriellen placentaren Kreislauf relaxieren und so den Perfusionsdruck bei konstanter Durchflussrate um durchschnittlich 2,6 % reduzieren. Diese Perfusionsdruckerniedrigung führt bei normoxischen Verhältnissen im maternalen Kreislauf zu einer Zunahme des Sauerstofftransfers in den fetalen Kreislauf. Die Ergebnisse bekräftigen in der Literatur aufgezeigte Ansätze, Fälle von Präeklampsie und fetaler Retardierung mit Hilfe von Nitroglyzerinapplikation behandeln zu können und gleichzeitig die fetale Nutrition zu verbessern.

Literaturverzeichnis

1. Abrams J (1992) Mechanism of action of the organic nitrates in the treatment of myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 70: 30-42B
2. Akerlund M, Carlsson AM, Melin P and Trojnar J (1985) The effect on the human uterus of two newly developed competitive inhibitors of oxytocin and vasopressin. *Acta Obstet Gynecol Scand* 64: 499-504
3. Arias F (2000) Pharmacology of oxytocin and prostaglandins. *Clin Obstet Gynecol* 43:455-68
4. Baaske DM, Karnatz NN and Carter JE (1983) High-performance liquid chromatographic assay for partially nitrated glycerins in Nitroglycerin. *J Pharma Sci* 72: 194-6
5. Beinder E, Mohaupt MG, Schlembach D, Fischer T, Sterzel RB Lang N and Baylis C (1999) Nitric oxide synthase activity and doppler parameters in the fetoplacental and uteroplacental circulation in preeclampsia. *Hypert Preg* 18: 115-127
6. Berkowitz GS and Papernik E (1993) Epidemiology of preterm birth. *Epidemiol Rev* 15: 414-43
7. Black RS, Lees C, Thompson C, Pickles A and Campbell S (1999) Maternal and fetal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate and intravenous ritodrine. *Obstet Gynecol* 94: 572-6
8. Block W, Klotz T, Sedlacek P, Zumbe J, Engelmann U and Addicks K (1998) Evidence for the involvement of endothelial nitric oxide synthase from smooth muscle cells in the erectile function of the human corpus cavernosum. *Urol Res* 26: 129-35
9. Bloxam DL and Bullen BE (1986) Condition and performance of the perfused human placental cotyledon. *Am J Obstet Gynecol* 155: 382-8
10. Boadie WY, Urbach J, Brandes JM and Yannai S (1992) In vitro effect of mercury on enzyme activities and its accumulation in the first-trimester human placenta. *Environ Res* 57 17-23
11. Bokstrom H, Bryman I, Norstrom A and Platz-Christensen JJ (1995) Dilapan tent-gemeprost regimen vs. combination of extra-amniotic Rivanol-Laminaria/Lamicel and oxytocin for second trimester abortion. *Int J Gynaecol Obstet* 169: 1070-73
12. Bootstaylor BS, Roman C, Parer JT and Heyman MA (1997) Fetal and maternal hemodynamic and metabolic effects of maternal Nitroglycerin infusions in sheep. *Am J Obstet Gynecol* 176: 644-50

13. Bossmar T, Akerlund M, Fantoni G, Szamatowicz J, Melin P and Maggi M (1994) Receptors for and myometrial responses to oxytocin and vasopressin in preterm and term human pregnancy: effects of the oxytocin antagonist atosiban. *Am J Obstet Gynecol* 171:1634-42
14. Brandes MJ, Tavoloni N, Potter BJ, Sarkozi L, Shepard MD and Berk PD (1983) A new recycling technique for human placental cotyledon perfusion: Application to studies of the fetomaternal transfer of glucose, inulin, and antipyrine. *Am J Obstet Gynecol* 146: 800-6
15. Bredt DS (1991) Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic Res* 31:577-96
16. Brodie BB, Axerrod J, Soberman R and Levy BB (1949) The estimation of antipyrine in biological materials. *J Biol Chem* 179: 25-29
17. Busse R : Vaskuläre und nicht-vaskuläre Funktionen von NO. Abstract 2. Jenaer Geburtshilfesymposium, 20. Mai 2000, S. 4 - 5
18. Byrne BM, Howard RB, Morrow RJ, Whiteley KJ and Adamson SL (1997) Role of the L-Arginine nitric oxide pathway in hypoxic fetoplacental vasoconstriction. *Placenta* 18: 627-634
19. Canadian Preterm Labour Investigation Group (1992) Treatment of preterm labour with the β -adrenergic agonist ritrotrine. *N Engl J Med* 327: 308-12
20. Cannell GR, Kluck RM, Hamilton SE, Mortimer RH, Hooper WD and Dickinson RG (1988) Markers of physical integrity and metabolic viability of the perfused human placental lobule. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15: 837-44
21. Chakder S, Bandyopadhyay A and Rattan S (1997) Neuronal NOS gene expression in gastrointestinal myenteric neurons and smooth muscle cells. *Am J Physiol* 273: C1868-75
22. Challier J-C, Hauguelde Mouzon S and Desmaizières V (1985) Metabolism and transfer of radioactive glucose in the human placenta studied by dual perfusion. *Contr Gynec Obstet* 13: 144-6
23. Chwalisz K and Garfield RE (1998) Role of nitric oxide in the uterus and cervix: implications for the management of labour. *Perinat Med* 448-57
24. David M: Ist der NO-Donator zur Behandlung der Dysmenorrhoe geeignet? Abstract 2. Jenaer Geburtshilfesymposium, 20. Mai 2000, S. 10 - 11
25. David M, Halle H, Lichtenegger W, Sinha P and Zimmermann T (1998) Nitroglycerin to facilitate fetal extraction during cesarean delivery. *Obstet Gynecol* 91: 119-24

26. David M, Walka MM, Schmid B, Sinha P, Veit S and Lichtenegger W (2000)
Nitroglycerin application during cesarean delivery: Plasma levels, fetal/maternal ratio of Nitroglycerin, and effect in newborns. *Am J Obstet Gynecol* 82: 955-61
27. Dawood MY, Wang CF, Gupta R and Fuchs F (1978) Fetal contribution to oxytocin in human labour. *Obstet Gynecol* 52: 205
28. di Ponti C, Mauri F, Ciliberto GR and Caru B (1979) Comparative effects of nifedipine, verapamil, isosorbide dinitrate and propranolol on exercise-induced angina pectoris. *Eur J Cardiol* 10: 47-58
29. Dixon M: *Manometric methods*. ed.2 Cambridge University Press, Cambridge, England (1943)
30. Du Vigneaud V, Ressler C and Trippett S (1953) The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. *J Biol Chem* 205: 949-57
31. Dufour P, Vinatier D and Puech F (1997) The use of intravenous Nitroglycerin for cervico-uterine relaxation: a review of the literature. *Arch Gynecol* 28: 1-7
32. El-Sayed YY, Riley ET, Holbrook RH, Cohen SE, Chitkara U and Druzin ML (1999) Randomized comparison of intravenous Nitroglycerin and magnesium sulfate for treatment of preterm labor. *Obstet Gynecol* 93: 79-83
33. Eriksson H, Björgell P, Akerlund M, Hauksson A and Melin P (1990) Effects of a tocolytic oxytocin analogue on lipid and carbohydrate metabolism. *Gynecol Obstet Invest* 29: 97-100
34. Fuchs AR, Fuchs F, Husslein P and Soloff MS (1984) Oxytocin receptors in the human uterus during pregnancy and parturition. *Am J Obstet Gynecol* 150: 734-41
35. Fuchs AR, Fuchs F, Husslein P, Soloff MS and Fernstrom MJ (1982) Oxytocin receptors and human parturition: a dual role for oxytocin in the initiation of labour. *Science* 216: 1396-8
36. Gelber L and Papas AN (1983) Validation of high-performance liquid chromatographic methods for analysis of sustained-release preparations containing Nitroglycerin, isosorbide dinitrate, or pentaerythritol tetranitrate. *J Pharm Sci* 72: 124-6
37. Gimbrone MA Jr, Topper JN, Nagel T, Anderson KR and Garcia-Cardena G (2000) Endothelial dysfunction, hemodynamic forces and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 902:230-39
38. Goni S, Sawheney H and Gopalan L (1995) Oxytocin induction of labour: a comparison of 20- and 60-min dose increment levels. *Int J Gynaecol Obstet* 43: 31-36

39. Greig PC, Massmann A, Demarest KT, Weglein RC, Holland ML and Figueroa JP (1993) Maternal and fetal cardiovascular effects and placental transfer of the oxytocin antagonist atosiban in late-gestation pregnant sheep. *Am J Obstet Gynecol* 169: 897-902
40. Goodwin TM, Paul R, Silver H, Spellacy W, Parsons M, Chez R, Hayashi R, Valenzuela G, Creasy GW and Merriman, R (1994) The effect of the oxytocin antagonist atosiban on preterm uterine activity in the human. *Am J Obstet Gynecol* 170: 474-8
41. Gude NM, Boura ALA., King RG, Brennecke SP, Jamal OS, Smith R and Walters WAW (1992) Evidence for inhibition by endothelium-derived relaxing factor of thromboxane A₂ receptor-mediated vasoconstriction in the fetal vessels of the human perfused placenta. *Placenta* 13: 597-605
42. Heinegard D and Tiderstrom G (1973) Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method. *Clin Chem Acta* 43: 305
43. Henning B and Benecke R (1987) Gaschromatographische Bestimmung von Nitroglycerol in Humanplasma. *Pharmazie* 42: 507-10
44. Heyman MA, Bootstaylor BS and Roman C: Glyceroltrinitrate Stops active labour in sheep. In: Moncada S, Feelisch M and Busse R (eds.): *The Biology of Nitric Oxide. Physiology and Clinical Aspects*. Portland Press, London (1994) S. 201-203
45. Howard RB, Hosokawa T and Maguire MH (1987) Hypoxia-induced fetoplacental vasoconstriction in perfused human placental cotyledons. *Am J Obstet Gynecol* 157: 1261-1266
46. Husslein P, Fuchs AR and Fuchs F (1981) Oxytocin and the initiation of human parturition: Prostaglandin release during induction of labour by oxytocin. *Am J Obstet Gynecol* 141: 688-93
47. Ignarro L J, Lippton H, Edwards J C et al. (1987) Mechanisms of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 218: 739-49
48. Illsley NP, Aarnoudse JG, Penfold P, Bardsley SE, Cosde SB, Stacey TE and Hytten FE (1984) Mechanical and metabolic viability of a placental perfusion system in vitro under oxygenated and anoxic conditions. *Placenta* 5: 213-26
49. Jaffé M (1886) Über den Niederschlag, welchen Picrinsäure in normalen Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 10: 391
50. Jennings RW, MacHillivray TE and Harrison MR (1993) Nitric oxide inhibits preterm labour in rhesus monkeys. *Maternal Fetal Med* 2: 170-75

51. Kay HH, Robinette B, Shin YY, Siew P, Shellhaas CS and Tyrey L (1997) Placental villous glucose metabolism and hormone release respond to varying oxygen tension. *J Soc Gynecol Invest* 4: 241-6
52. King RG, Gude NM, Di Iulio JL and Brennecke S P (1995) Regulation of human placental fetal vessel tone: role of nitric oxide. *Reprod Fertil Dev* 7: 1407-1411
53. Lee FW, Salmonson T and Benet LZ (1993) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Nitroglycerin and its dinitrate metabolites in conscious dogs: intravenous infusion studies. *J Pharmacokin Biopharmaceutics* 21: 533-50
54. Lees C, Campbell S, Jauniaux E, Brown R, Ramsay B, Gibb D, Moncada S and Martin JF (1994) Arrest of preterm labour and prolongation of gestation with glyceryl trinitrate, a nitric oxide donor. *Lancet* 343: 1325-1326
55. Lees C, Lojacono A, Thompson C, Danti L, Black R, Tanzi P, White J and Campbell S (1999) Glyceryl trinitrate and ritodrine in tocolysis: an international multicenter randomised study. *Obstet Gynecol* 94: 403-408
56. Ledingham MA, Thomson AJ, Greer IA and Norman JE (2000) Nitric oxide in parturition. *Brit J Obstet Gynaecol* 107: 581-93
57. López-Bernal A, Phipps SL, Rosevear SK and Turnbull AC (1989) Mechanism of action of the oxytocin antagonist 1-deamino-2-D-Tyr(Oet)-4-Thr-8-Orn-oxytocin. *Br J Obstet Gynaecol* 96: 1108-10
58. Malek A, Blann E und Mattison D R (1996a) Human placental transport of oxytocin. *J Mat-Fet Med* 5: 254-255
59. Malek A, Sager R, Lang AB and Schneider H (1997) Protein transport across the in vitro perfused human placenta. *AJRI* 38: 263-271
60. Malek A, Sager R, Altermatt HJ, Gaeng D, Leiser R and Scheider H (1996c) Glucose consumption and lactate production of human placental tissue under different conditions of in vitro incubation. *J Soc Gynecol Investig* 3: 113-20
61. Malek A, Miller RK, Mattison DR, Kennedy S, Panigel M, di Sant`Agnese PA and Jesse L (1996b) Energy charge monitoring via magnetic resonance spectroscopy ³¹P in the perfused placenta : effect of cadmium, dinitrophenol and iodoacetate. *Placenta* 17 : 494-506
62. Marks GS, Mc Laughlin BE, Nakatsu K and Brien JF (1992) Direct evidence for nitric oxide formation from glyceryl trinitrate during incubation with intact bovine pulmonary artery. *Can J Physiol Pharmacol* 70: 308-311
63. Melin P (1994) Development of an oxytocin antagonist – Atosiban. *Res Clin Forums* 16: 155-68

64. Melin P, Trojnar J, Johansson B, Vilhardt H and Akerlund M (1986) Synthetic antagonists of the myometrial response to vasopressin and oxytocin. *J Endocrinol* 111: 125-131
65. Miller RK, Wier PJ, Maulik D and di Sant`Agnese PA (1985) Human placenta in vitro: characterization during 12 h of dual perfusion. *Cont Gynecol Obstet* 13: 77-84
66. Moutquin JM, Sherman D, Cohen H, Mohide PT, Hochner-Celnikier D, Fejgin M, Liston RM, Dansereau J, Mazor M, Shalev E, Boucher M, Glezerman M, Zimmer EZ and Rabinovici J (2000) Double blind, randomised, controlled trial of atosiban and ritodrine in the treatment of labour: a multicenter effectiveness and safety study. *Am J Obstet Gynecol* 182: 1191-99
67. Myatt L, Brewer A and Brockman DE (1991) The action of nitric oxide in the perfused human fetal-placental circulation. *Am J Obstet Gynecol* 164: 687-692
68. Myatt L, Brockman DE, Eis ALW and Pollock JS (1993) Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta. *Placenta* 14: 487-495
69. Myatt L, Brewer AS, Langdon G and Brockman DE (1992) Attenuation of the vasoconstrictor effects of thromboxane and endothelin by nitric oxide in the human fetal-placental circulation. *Am J Obstet Gynecol* 166: 224-230
70. Nathanielsz PW, Honnabier MBOM, Mecenas C, Jenkins SL, Holland ML and Demarest K (1997) Effect of the Oxytocin Antagonist Atosiban (1-Deaminol²IDITyr(OET)-4-Thr-8-Orn-Vasotocin/Oxytocin) on Nocturnal Myometrial Contractions, Maternal Cardiovascular Function, Transplacental Passage, and Fetal Oxygenation in the Pregnant Baboon during the Last Third of Gestation. *Biol Reprod* 57: 320-24
71. Nöschel H, Reiber W und Schröder S (1982) Untersuchungen zur medikamentösen Beeinflussung des Kontraktionszustandes der fetalen Plazentagefäße an der in vitro beidseitig perfundierten menschlichen Plazenta *Zbl Gynäkol* 104: 1149-1154
72. Norman JE and Cameron JT (1996) Nitric oxide in the human uterus. *J Reprod Fert* 1: 61-68
73. Norman JE, Ward LM, Martin W, Cameron AD, McGrath JC, Greer JA and Cameron JT (1997) Effects of cGMP and the nitric oxide donors glyceryl trinitrate and sodium nitroprussid on contractions in vitro of isolated myometrial tissue from pregnant women. *J Reprod Fert* 110: 249-54
74. Norris LA, Higgins JR, Darling MRN, Walshe JJ and Bonnar J (1999) Nitric Oxide in the uteroplacental, fetoplacental, and peripheral circulations in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 93: 958-63

75. Olsen CS and Scrooggins HS (1983) High-performance liquid chromatographic determination of Nitroglycerin in sublingual, sustained-release, and ointment dosage forms. *J Pharma Sci* 72: 963-5
76. Panigel M (1968) Placental perfusion. In: *Fetal homeostasis*. Wynn (Hrsg.) Apleton Century Crofts, New York 4: 15-25
77. Polliotti BM, Holmes R, Cornish JP, Hulsey M and Nahmias AJ (1996) Longterm dual perfusion of isolated human placental lobules with improved oxygenation for infectious diseases research. *Placenta* 17: 57-68
78. Poranen A-K, Aubry J, Kujari H and Ekblad U (1998) Expression of nitric oxide synthase in normal and preeclamptic placental tissue and effects of glyceryl trinitrate and shear stress on placental blood flow. *Acta Obstet Gynecol Scand* 77: 594-597
79. Product Monograph Tractocile©, Atosiban: Ferring Pharmaceuticals
80. Ramsay B, Sooranna SR and Johnson MR (1996) Nitric oxide synthase activities in human myometrium and villous trophoblast throughout pregnancy. *Obstet Gynecol* 87: 249-53
81. Reiber W, Nöschel H und Schröder S (1984) Medikamentöse Beeinflussung der fetoplazentaren Durchblutung. *DDR Med Rep* 13: 7-9
82. Rettwitz-Volk W (1996) Epidemiologische Aspekte der Frühgeburtlichkeit. *Perinat-Med* 8: 15-18
83. Romero R, Goncalves LF, Gomez R und Munoz H () Atosiban – a new therapeutic choice, clinical experience and research needs. *Res Clin For* 16: 171-87
84. Romero R, Sibai BM, Sanchez-Ramos L, Valenzuela GJ, Ville JC, Tabor B, Perry KG, Varner M, Goodwin M, Lane R, Smith J, Shangold G and Creasy GW (2000) An Oxytocin receptor antagonist (atosiban) in the treatment of preterm labour: a randomised, double blind, placebo-controlled trial with tocolytic rescue. *Am J Obstet Gynecol* 182: 1173-83
85. Seligman SP, Buyon JP, Clancy RM, Young BK and Abramson (1994) SB The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 171: 944-8
86. Schleußner E, Richter S, Groß W, Kähler C, Möller U und Seewald H-J (1999) Transdermale Nitroglycerinapplikation zur Tokolyse – Erste Ergebnisse einer prospektiv randomisierten Studie. *Z Geburtsh Neonatol* 203:97
87. Schleußner E, Richter S, Groß W, Kähler C, Möller A, Möller U und Seewald H-J (2001) Nitroglycerinpflaster zur Tokolyse – ein prospektiv randomisierter Vergleich mit Fenoterol per infusionem. *Z Geburts Neonatol* 205: 189-194

88. Schneider H (2000) Placental oxygen consumption. Part II: In vitro studies – a review. Placenta Supplement A, Trophoblast Research, 14: 38-44
89. Schneider H and Huch A (1985a) Dual in vitro perfusion of an isolated lobe of human placenta: method and instrumentation. Contr Gynec Obstet 13: 40-7
90. Schneider H and Dancis J (1987) In vitro human placental perfusion of human placenta. Trophoblast Research 2: 597-605
91. Schneider H, Panigel M and Dancis J (1972) Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine. Am J Obstet Gynecol 114: 822-8
92. Schneider H, Challier JC and Dancis J (1981) Transfer and metabolism of glucose and lactate in the human placenta studied by perfusion system in vitro. Placenta 2: 129-138
93. Schneider H, Prögler M and Sodha RJ (1985b) Effect of flow rate ratio on the diffusion of antipyrine and $^3\text{H}_2\text{O}$ in the isolated dually in vitro perfused lobe of the human placenta. Contr Gynec Obstet 13 : 114-23
94. Schneider H, Sodha RJ, Prögler M and Young MPA (1985c) Permeability of the human placenta for hydrophilic substances studied in the isolated dually in vitro perfused lobe. Contr Gynec Obstet 13 : 98-103
95. Silver H, Valenzuela G, Sanchez-Ramos L, et al. (1997) Maternal side effects and safety of the oxytocin receptor antagonist antocin. Am J Obstet Gynecol 176: SPO abstr 124, S45
96. Sladek SM, Regenstein AC, Lykins D and Roberts JM (1993) Nitric oxide synthase activity in pregnant rabbit uterus decreases on the last day of pregnancy. Am J Obstet Gynecol 169: 1285-91
97. Sladek SM, Magness RR and Conrad KP (1997) Nitric oxide and pregnancy. Am Physiol Soc R441-63
98. Slot C (1965) Plasma creatinine determination. A new and specific Jaffé reaction method. Scand J Clin Lab Invest 17: 381
99. Smith GN, Walker MC and McGrath MJ (1999) Randomised, double-blind, placebo controlled pilot study assessing nitroglycerin as a tocolytic. Br J Obstet Gynecol 106: 736-739
100. Soloff MS, Fernstöm MA and Fernström MJ (1989) Vasopressin and oxytocin receptor on plasma membranes from rat mammary gland. Demonstration of vasopressin receptors by stimulation of inositol phosphate formation and oxytocin receptors by binding of a specific ^{125}I -labelled oxytocin antagonist, $\text{d}(\text{CH}_2)_5^1[\text{Tyr}(\text{Me})^2, \text{Thr}^4, \text{Tyr-NH}_2^9]\text{OVT}$. Biochem Cell Biol 67: 152-62

101. Syal A, Okawa T, Vedernikov Y, Chwalisz K, Saase GR and Garfield RE (1999)
Effect of placental tissue on inhibition of uterine contraction by nitric oxide donors. *Am J Obstet Gynecol* 181: 415-8
102. The world wide Atosiban versus Beta-agonists Study Group (2001) Effectiveness and safety of the oxytocin antagonist atosiban versus beta-adrenergic agonists in the treatment of preterm labour. *Brit J Obstet Gynaecol* 108: 133-42
103. Thornton S, Gillespie JI, Anson LC, Greenwell JR, Melin P and Dunlop W (1993) The effect of the oxytocin antagonists, CAP 476 and F 327, on calcium mobilisation in single cultured human myometrial cells. *Br J Obstet Gynecol* 100: 581-6
104. Tschugguel W, Schneeberger C, Unfried G, Bräutigam G., Stonek F, Wieser F, Vytiska-Binstorfer E, Czernwenka K, Weninger W, Kaider A, Bursch W, Breitschopf H and Huber JC (1999a) Elevation of inducible nitric oxide synthase activity in human endometrium during menstruation. *Biol Reprod* 60 : 297-304
105. Tschugguel W, Schneeberger C, Lass H, Stonek F, Zaghlula MB, Czerwenka K, Schatten C, Kaider A, Husslein P and Huber JC (1999b) Human cervical ripening is associated with an increase in cervical inducible nitric oxide synthase expression. *Biol Reprod* 60 : 1367-72
106. Toaff MD, Hexroni J and Toaff R (1978) Induction of labour by pharmacological and physiological doses of intravenous oxytocin. *Br J Obstet Gynecol* 85: 101-8
107. Valenzuela GJ, Craig J, Bernhardt MD and Holland ML (1995) Placental passage of the oxytocin antagonist atosiban. *Am J Obstet Gynecol* 172: 1304-6
108. Valenzuela GJ, Sanchez-Ramos L, Romero R, Silver HM, Koltun WD, Millar L, Hobbins J, Rayburn W, Shangold G, Wang J, Smith J and Creasy GW (2000) Maintenance treatment of preterm labour with the oxytocin antagonist atosiban. *Am J Obstet Gynecol* 182: 1184-90
109. Van de Voorde J, Vanderstichele H and Leusen I (1987) Release of endothelium derived relaxing factor from human umbilical vessels. *Circ Res* 60: 517-522
110. Wetzka B, Schäfer WR, Stehmans S and Zahradnik HP (2001) Effects of nitric oxide donors on the contractility and prostaglandin synthesis of myometrial strips from pregnant and non-pregnant women. *Gynecol Endocrinol* 15: 34-42
111. Wier PJ, Miller RK, Maulik D and di Sant`Agnese PA (1983) Bidirectional transfer of α -aminoisobutyric acid by the perfused human placental lobule. *Trophoblast Research* 1: 37-54

112. Wilson L, Parsons MT and Flouret G (1991) Inhibition of oxytocin-induced uterine contractions by an oxytocin antagonist in the pregnant baboon. *Am J Obstet Gynecol* 165: 456-60
113. Wolf R, Pretschner P, Hundeshagen H und Lichtlen PR (1979) Isosorbide-dinitrate in myocardial perfusion. *Z Kardiol* 68: 676-86
114. Yallampalli C, Dong YL, Gangula PR and Fang L (1998) Role and regulation of nitric oxide in the uterus during pregnancy and parturition. *J Soc Gynecol Investig* 5: 58-67
115. Yoshiki N, Kubota T and Aso T (2000) Expression and localization of inducible nitric oxide synthase in human non-pregnant and early pregnant endometrium. *Mol Hum Reprod* 6: 238-47
116. Zhang XQ, Kwek K, Read MA, Donoghue JF and Walters WA (2001) Effects of nitrovasodilators on the human fetal-placental circulation in vitro. *Placenta* 22: 337-46
117. Chen Z, Zhang J and Stamler JS (2002) Identification of the enzymatic mechanism of nitroglycerin bioactivation. *PNAS* 99: 8306-8311

Anhang

Tabelle a: Leerperfusion, maternal; Mittelwerte der Ergebnisse mit Standardabweichung

Tabelle b: Leerperfusion, fetal; Mittelwerte der Ergebnisse mit Standardabweichung

Tabelle c: Nitroglyzerinperfusion, maternal; Mittelwerte der Ergebnisse mit
Standardabweichung

Tabelle d: Nitroglyzerinperfusion, fetal; Mittelwerte der Ergebnisse mit Standardabweichung

Tabelle e: Atosibanperfusion, maternal; Mittelwerte der Ergebnisse mit Standardabweichung

Tabelle f: Atosibanperfusion, fetal; Mittelwerte der Ergebnisse mit Standardabweichung

Tabelle g: Übersicht über die Probenentnahmen während der Perfusion

| Zeitpunkt der Probenentnahme [min] | | Antipyrin [µg/ml] | Kreatinin [µg/ml] | Glukose [mmol/kg Kotgew] | Laktat [mmol/kg Kotgew] | O2- Verbrauch [ml/min*kg] | O2- Transfer [ml/min*kg] | β-HCG [mU/kg Kotgew] | |
|--|-----|----------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------|-----|
| 0 | x | 82,4 | 139,8 | 55,4 | 3,3 | | | 8,4 | x |
| | sd± | 14,7 | 11,5 | 21,1 | 2,1 | | | 3,8 | sd± |
| 30 | x | 57,2 | 93,0 | 50,7 | 12,3 | 2,7 | 0,5 | 4311,9 | x |
| | sd± | 10,9 | 6,9 | 20,3 | 4,9 | 2,9 | 0,5 | 2403,4 | sd± |
| 60 | x | 47,7 | 80,9 | 43,9 | 18,2 | 4,2 | 0,5 | 7355,1 | x |
| | sd± | 8,8 | 6,6 | 17,4 | 7,0 | 4,8 | 0,5 | 4706,5 | sd± |
| 90 | x | 43,8 | 72,7 | 36,5 | 21,8 | 3,7 | 0,6 | 10046,0 | x |
| | sd± | 7,4 | 6,4 | 13,7 | 8,0 | 4,8 | 0,4 | 7433,0 | sd± |
| 120 | x | 42,2 | 67,6 | 31,5 | 25,1 | 3,6 | 0,9 | 11710,2 | x |
| | sd± | 7,2 | 6,7 | 12,0 | 8,9 | 4,0 | 0,6 | 8423,9 | sd± |
| | | | | | | | | | |
| 130 | x | 82,5 | 142,6 | 118,3 | 7,9 | | | 26,7 | x |
| | sd± | 12,5 | 9,9 | 49,0 | 3,7 | | | 15,7 | sd± |
| 160 | x | 64 | 133,1 | 102,8 | 19,7 | 4,4 | 0,9 | 4402,0 | x |
| | sd± | 12,6 | 7,6 | 43,8 | 8,5 | 5,2 | 0,5 | 3570,6 | sd± |
| 190 | x | 54,1 | 125,7 | 86,1 | 26,0 | 3,4 | 0,8 | 6421,6 | x |
| | sd± | 10,4 | 8,3 | 36,7 | 11,5 | 3,2 | 0,4 | 4697,3 | sd± |
| 220 | x | 48,9 | 116,5 | 76,3 | 31,6 | 3,3 | 0,7 | 8579,9 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 32,1 | 13,9 | 2,8 | 0,3 | 6437,9 | sd± |
| 250 | x | 45,7 | 108,8 | 65,9 | 36,9 | 3,6 | 0,7 | 9365,8 | x |
| | sd± | 8,4 | 7,8 | 27,9 | 15,2 | 2,8 | 0,5 | 6726,0 | sd± |
| 310 | x | 44,6 | 99,1 | 53,4 | 46,3 | 2,7 | 0,7 | 12606,4 | x |
| | sd± | 9,6 | 8,7 | 25,8 | 19,5 | 2,4 | 0,5 | 8676,6 | sd± |
| 370 | x | 43 | 92,2 | 40,2 | 53,0 | 1,4 | 0,5 | 14922,3 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 22,3 | 22,7 | 1,3 | 0,6 | 11473,3 | sd± |

Tabelle a: Leerperfusion, maternal; Mittelwerte (n = 5) der Ergebnisse mit Standardabweichung

| Zeitpunkt der Probenentnahme | | Antipyrin | Kreatinin | Glukose | Laktat | O ₂ - Verbrauch | O ₂ - Transfer | Perfusions- druck | |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|------------------|------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------|-----|
| [min] | | [µg/ml] | [µg/ml] | [mmol/kg Kotgew] | [mmol/kg Kotgew] | [ml/min*kg] | [ml/min*kg] | fetal [mmHg] | |
| 0 | x | 82,4 | 139,8 | 55,4 | 3,3 | | | 21,2 | x |
| | sd± | 14,7 | 11,5 | 21,1 | 2,1 | | | 5,3 | sd± |
| 30 | x | 57,2 | 93,0 | 50,7 | 12,3 | 2,7 | 0,5 | 21,2 | x |
| | sd± | 10,9 | 6,9 | 20,3 | 4,9 | 2,9 | 0,5 | 5,3 | sd± |
| 60 | x | 47,7 | 80,9 | 43,9 | 18,2 | 4,2 | 0,5 | 21,2 | x |
| | sd± | 8,8 | 6,6 | 17,4 | 7,0 | 4,8 | 0,5 | 5,2 | sd± |
| 90 | x | 43,8 | 72,7 | 36,5 | 21,8 | 3,7 | 0,6 | 19,6 | x |
| | sd± | 7,4 | 6,4 | 13,7 | 8,0 | 4,8 | 0,4 | 4,1 | sd± |
| 120 | x | 42,2 | 67,6 | 31,5 | 25,1 | 3,6 | 0,9 | 19,8 | x |
| | sd± | 7,2 | 6,7 | 12,0 | 8,9 | 4,0 | 0,6 | 4,6 | sd± |
| | | | | | | | | | |
| 130 | x | 82,5 | 142,6 | 118,3 | 7,9 | | | 20,0 | x |
| | sd± | 12,5 | 9,9 | 49,0 | 3,7 | | | 4,9 | sd± |
| 160 | x | 64 | 133,1 | 102,8 | 19,7 | 4,4 | 0,9 | 22,0 | x |
| | sd± | 12,6 | 7,6 | 43,8 | 8,5 | 5,2 | 0,5 | 5,4 | sd± |
| 190 | x | 54,1 | 125,7 | 86,1 | 26,0 | 3,4 | 0,8 | 22,0 | x |
| | sd± | 10,4 | 8,3 | 36,7 | 11,5 | 3,2 | 0,4 | 5,5 | sd± |
| 220 | x | 48,9 | 116,5 | 76,3 | 31,6 | 3,3 | 0,7 | 22,4 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 32,1 | 13,9 | 2,8 | 0,3 | 5,1 | sd± |
| 250 | x | 45,7 | 108,8 | 65,9 | 36,9 | 3,6 | 0,7 | 23,2 | x |
| | sd± | 8,4 | 7,8 | 27,9 | 15,2 | 2,8 | 0,5 | 5,3 | sd± |
| 310 | x | 44,6 | 99,1 | 53,4 | 46,3 | 2,7 | 0,7 | 33,2 | x |
| | sd± | 9,6 | 8,7 | 25,8 | 19,5 | 2,4 | 0,5 | 5,3 | sd± |
| 370 | x | 43 | 92,2 | 40,2 | 53,0 | 1,4 | 0,5 | 23,4 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 22,3 | 22,7 | 1,3 | 0,6 | 5,6 | sd± |

Tabelle b: Leerperfusion, fetal; Mittelwerte (n = 5) der Ergebnisse mit Standardabweichung

| Zeitpunkt der Probenentnahme | | Antipyrin | Kreatinin | Glukose | Laktat | O2- Verbrauch | ß-HCG | Nitroglyzerin | |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|------------------|------------------|------------------|----------------|---------------|-----|
| [min] | | [µg/ml] | [µg/ml] | [mmol/kg Kotgew] | [mmol/kg Kotgew] | [ml/min*kg] | [mU/kg Kotgew] | [µg/ml] | |
| 0 | x | 82,4 | 139,8 | 55,4 | 3,3 | | 8,4 | | x |
| | sd± | 14,7 | 11,5 | 21,1 | 2,1 | | 3,8 | | sd± |
| 30 | x | 57,2 | 93,0 | 50,7 | 12,3 | 2,7 | 4311,9 | | x |
| | sd± | 10,9 | 6,9 | 20,3 | 4,9 | 2,9 | 2403,4 | | sd± |
| 60 | x | 47,7 | 80,9 | 43,9 | 18,2 | 4,2 | 7355,1 | | x |
| | sd± | 8,8 | 6,6 | 17,4 | 7,0 | 4,8 | 4706,5 | | sd± |
| 90 | x | 43,8 | 72,7 | 36,5 | 21,8 | 3,7 | 10046,0 | | x |
| | sd± | 7,4 | 6,4 | 13,7 | 8,0 | 4,8 | 7433,0 | | sd± |
| 120 | x | 42,2 | 67,6 | 31,5 | 25,1 | 3,6 | 11710,2 | | x |
| | sd± | 7,2 | 6,7 | 12,0 | 8,9 | 4,0 | 8423,9 | | sd± |
| | | | | | | | | | |
| 130 | x | 82,5 | 142,6 | 118,3 | 7,9 | | 26,7 | 1,57 | x |
| | sd± | 12,5 | 9,9 | 49,0 | 3,7 | | 15,7 | 0,25 | sd± |
| 160 | x | 64 | 133,1 | 102,8 | 19,7 | 4,4 | 4402,0 | 0,87 | x |
| | sd± | 12,6 | 7,6 | 43,8 | 8,5 | 5,2 | 3570,6 | 0,31 | sd± |
| 190 | x | 54,1 | 125,7 | 86,1 | 26,0 | 3,4 | 6421,6 | 0,50 | x |
| | sd± | 10,4 | 8,3 | 36,7 | 11,5 | 3,2 | 4697,3 | 0,25 | sd± |
| 220 | x | 48,9 | 116,5 | 76,3 | 31,6 | 3,3 | 8579,9 | 0,37 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 32,1 | 13,9 | 2,8 | 6437,9 | 0,20 | sd± |
| 250 | x | 45,7 | 108,8 | 65,9 | 36,9 | 3,6 | 9365,8 | 0,29 | x |
| | sd± | 8,4 | 7,8 | 27,9 | 15,2 | 2,8 | 6726,0 | 0,18 | sd± |
| 310 | x | 44,6 | 99,1 | 53,4 | 46,3 | 2,7 | 12606,4 | 0,21 | x |
| | sd± | 9,6 | 8,7 | 25,8 | 19,5 | 2,4 | 8676,6 | 0,16 | sd± |
| 370 | x | 43 | 92,2 | 40,2 | 53,0 | 1,4 | 14922,3 | 0,14 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 22,3 | 22,7 | 1,3 | 11473,3 | 0,13 | sd± |

Tabelle c: Nitroglyzerinperfusion, maternal; Mittelwerte (n = 10) der Ergebnisse mit Standardabweichung

| Zeitpunkt der Probenentnahme | | Antipyrin | Kreatinin | Glukose | Laktat | O2- Transfer | Perfusions- druck | Nitroglyzerin | |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|------------------|------------------|-----------------|----------------------|---------------|-----|
| [min] | | [µg/ml] | [µg/ml] | [mmol/kg Kotgew] | [mmol/kg Kotgew] | [ml/min*kg] | fetal [mmHg] | [µg/ml] | |
| 0 | x | 82,4 | 139,8 | 55,4 | 3,3 | | 18,3 | | x |
| | sd± | 14,7 | 11,5 | 21,1 | 2,1 | | 4,8 | | sd± |
| 30 | x | 57,2 | 93,0 | 50,7 | 12,3 | 0,5 | 19,8 | | x |
| | sd± | 10,9 | 6,9 | 20,3 | 4,9 | 0,5 | 5,8 | | sd± |
| 60 | x | 47,7 | 80,9 | 43,9 | 18,2 | 0,5 | 20,4 | | x |
| | sd± | 8,8 | 6,6 | 17,4 | 7,0 | 0,5 | 5,6 | | sd± |
| 90 | x | 43,8 | 72,7 | 36,5 | 21,8 | 0,6 | 19,6 | | x |
| | sd± | 7,4 | 6,4 | 13,7 | 8,0 | 0,4 | 5,8 | | sd± |
| 120 | x | 42,2 | 67,6 | 31,5 | 25,1 | 0,9 | 19,6 | | x |
| | sd± | 7,2 | 6,7 | 12,0 | 8,9 | 0,6 | 5,8 | | sd± |
| | | | | | | | | | |
| 130 | x | 82,5 | 142,6 | 118,3 | 7,9 | | 17,1 | | x |
| | sd± | 12,5 | 9,9 | 49,0 | 3,7 | | 4,3 | | sd± |
| 160 | x | 64 | 133,1 | 102,8 | 19,7 | 0,9 | 17,1 | 0,16 | x |
| | sd± | 12,6 | 7,6 | 43,8 | 8,5 | 0,5 | 4,3 | 0,06 | sd± |
| 190 | x | 54,1 | 125,7 | 86,1 | 26,0 | 0,8 | 17,6 | 0,24 | x |
| | sd± | 10,4 | 8,3 | 36,7 | 11,5 | 0,4 | 4,4 | 0,09 | sd± |
| 220 | x | 48,9 | 116,5 | 76,3 | 31,6 | 0,7 | 18,2 | 0,26 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 32,1 | 13,9 | 0,3 | 5,2 | 0,09 | sd± |
| 250 | x | 45,7 | 108,8 | 65,9 | 36,9 | 0,7 | 19,1 | 0,26 | x |
| | sd± | 8,4 | 7,8 | 27,9 | 15,2 | 0,5 | 5,9 | 0,11 | sd± |
| 310 | x | 44,6 | 99,1 | 53,4 | 46,3 | 0,7 | 21,8 | 0,18 | x |
| | sd± | 9,6 | 8,7 | 25,8 | 19,5 | 0,5 | 7,4 | 0,09 | sd± |
| 370 | x | 43 | 92,2 | 40,2 | 53,0 | 0,5 | 29,0 | 0,10 | x |
| | sd± | 9 | 9 | 22,3 | 22,7 | 0,6 | 11,0 | 0,07 | sd± |

Tabelle d: Nitroglyzerin, fetal; Mittelwerte (n = 10) der Ergebnisse mit Standardabweichung

| Zeitpunkt der Probenentnahme | | Antipyrin | Kreatinin | Glukose | Laktat | O ₂ - Verbrauch | ß-HCG | Atosiban | |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|------------------|------------------|-------------------------------|----------------|----------|-----|
| [min] | | [µg/ml] | [µg/ml] | [mmol/kg Kotgew] | [mmol/kg Kotgew] | [ml/min*kg] | [mU/kg Kotgew] | [ng/ml] | |
| 0 | x | 84,7 | 135,9 | 51,8 | 0 | | 0 | | x |
| | sd± | 6,5 | 6,7 | 16,7 | 0 | | 0 | | sd± |
| 30 | x | 54,8 | 85,2 | 54,4 | 8,3 | 4,54 | 4854,5 | | x |
| | sd± | 5,7 | 7,6 | 13,9 | 6,8 | 3,19 | 3601,8 | | sd± |
| 60 | x | 47,8 | 75,1 | 38,4 | 16 | 3,91 | 7399,1 | | x |
| | sd± | 4,4 | 7,7 | 11,4 | 10,1 | 2,97 | 5964,5 | | sd± |
| 90 | x | 45,6 | 66 | 33,5 | 21 | 4,12 | 9353,8 | | x |
| | sd± | 4,5 | 6,7 | 10 | 10,4 | 3,33 | 7595,2 | | sd± |
| 120 | x | 44,4 | 61,5 | 26,8 | 25,1 | 4,8 | 11333,1 | | x |
| | sd± | 4,2 | 6,8 | 8,7 | 13,9 | 4,2 | 9561,4 | | sd± |
| | | | | | | | | | |
| 130 | x | 82,1 | 141 | 108,2 | 0 | | 0 | 424,7 | x |
| | sd± | 6,6 | 4,1 | 29,1 | 0 | | 0 | 15,6 | sd± |
| 160 | x | 63,8 | 131,7 | 92,1 | 12,7 | 4,71 | 4735,2 | 380,3 | x |
| | sd± | 6,5 | 4 | 24,5 | 11,9 | 2,90 | 3713,5 | 21,0 | sd± |
| 190 | x | 55 | 122,2 | 77 | 21,9 | 4,42 | 7179,4 | 351,3 | x |
| | sd± | 5,9 | 4,8 | 20 | 15,9 | 3,29 | 5695,6 | 28,5 | sd± |
| 220 | x | 48,8 | 114,8 | 66,5 | 30,1 | 4,00 | 9579,6 | 341,0 | x |
| | sd± | 6 | 7,9 | 17,2 | 20,6 | 2,70 | 7831,4 | 19,6 | sd± |
| 250 | x | 46,3 | 108,6 | 56,6 | 36,5 | 4,14 | 11412,1 | 334,7 | x |
| | sd± | 4,3 | 8,4 | 15,6 | 23,4 | 3,09 | 10413,7 | 19,8 | sd± |
| 310 | x | 44,9 | 98 | 41,8 | 50,2 | 3,36 | 13387,9 | 311,3 | x |
| | sd± | 3,8 | 7,6 | 15 | 27,5 | 3,41 | 11815,5 | 23,1 | sd± |
| 370 | x | 44,9 | 88,2 | 27,2 | 59,0 | 3,11 | 1422,6 | 288,7 | x |
| | sd± | 3,5 | 4,5 | 13,8 | 26,9 | 3,69 | 13228,8 | 30,0 | sd± |

Tabelle e: Atosiban, maternal; Mittelwerte (n = 10) der Ergebnisse mit Standardabweichung

| Zeitpunkt der Probenentnahme | | Antipyrin | Kreatinin | Glukose | Laktat | O ₂ - Transfer | Perfusions- druck | Atosiban | |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|------------------|------------------|------------------------------|----------------------|----------|-----|
| [min] | | [µg/ml] | [µg/ml] | [mmol/kg Kotgew] | [mmol/kg Kotgew] | [ml/min*kg] | fetal [mmHg] | [ng/ml] | |
| 0 | x | 3,3 | 0 | 51,2 | 0 | | 18 | | x |
| | sd± | 3,1 | 0 | 15,9 | 0 | | 4,8 | | sd± |
| 30 | x | 34,2 | 9,3 | 47,5 | 2,2 | 0,64 | 19,2 | | x |
| | sd± | 4,1 | 4 | 17,8 | 1,4 | 0,53 | 5,5 | | sd± |
| 60 | x | 41,6 | 20,3 | 42,6 | 5,3 | 0,60 | 18,8 | | x |
| | sd± | 3,7 | 7,1 | 17 | 3,0 | 0,45 | 5,2 | | sd± |
| 90 | x | 43,4 | 29,5 | 36,3 | 9,3 | 0,67 | 18 | | x |
| | sd± | 4 | 7,7 | 15 | 3,4 | 0,30 | 4,6 | | sd± |
| 120 | x | 43,9 | 36,4 | 31,1 | 12,4 | 0,78 | 17,6 | | x |
| | sd± | 4 | 8,7 | 13,5 | 4,3 | 0,48 | 4,2 | | sd± |
| | | | | | | | | | |
| 130 | x | 3,9 | 0 | 112,3 | 0 | | 17,8 | | x |
| | sd± | 3,1 | 0 | 29,6 | 0 | | 4,7 | | sd± |
| 160 | x | 25,7 | 9,1 | 103,3 | 3,4 | 0,68 | 19,2 | 7,2 | x |
| | sd± | 2,7 | 4,4 | 27,7 | 2,5 | 0,34 | 5,5 | 2,0 | sd± |
| 190 | x | 35,2 | 19 | 88,9 | 9,0 | 0,73 | 19,2 | 14,9 | x |
| | sd± | 2,3 | 6,2 | 23,1 | 4,5 | 0,31 | 5,2 | 3,5 | sd± |
| 220 | x | 39,6 | 27,2 | 79,6 | 13,4 | 0,62 | 19,6 | 17,1 | x |
| | sd± | 3 | 7,1 | 21,4 | 5,2 | 0,26 | 5,6 | 1,8 | sd± |
| 250 | x | 42,1 | 35,3 | 69,5 | 18 | 0,70 | 20,4 | 29,3 | x |
| | sd± | 3,2 | 8,2 | 19,6 | 6,2 | 0,36 | 6,2 | 7,3 | sd± |
| 310 | x | 43,6 | 47,4 | 56,3 | 26,3 | 0,45 | 21 | 41,5 | x |
| | sd± | 3,4 | 7,1 | 18,6 | 7,7 | 0,47 | 6,2 | 11,1 | sd± |
| 370 | x | 43,5 | 54,1 | 38,1 | 31,7 | 0,44 | 24,2 | 59,4 | x |
| | sd± | 2,6 | 9,6 | 16,9 | 6,7 | 0,46 | 5,8 | 22,0 | sd± |

Tabelle f: Atosibanperfusion, fetal; Mittelwerte (n = 10) der Ergebnisse mit Standardabweichung

| | Zeitpunkt [min] | Menge [ml] | Entnahme im maternalem Kreislauf | | | | Entnahme im fetalen Kreislauf | | | |
|---|---|---------------|----------------------------------|------------------|-------|-----------------|-------------------------------|------------------|-------|-------------|
| Vorphase | 0 | x ml/min | arteriell | Flow | | | arteriell | Antipyrin, Flow | | |
| | 30 | x ml/min | | | venös | Antipyrin, Flow | | | venös | Flow |
| offen | 31 | x ml/min | | | venös | Antipyrin, Flow | | | venös | Flow |
| Kontroll- phase | 0 | 6 | arteriell | Sauerstoff, pH, | | | arteriell | Sauerstoff, pH, | | |
| | 30 | 6 | arteriell | Glukose, Laktat, | venös | Sauerstoff, | arteriell | Glukose, | venös | Sauerstoff, |
| | 60 | 6 | arteriell | Kreatinin, | venös | pH, | arteriell | Laktat, | venös | pH, |
| | 90 | 6 | arteriell | Antipyrin, | venös | Glukose, | arteriell | Kreatinin, | venös | Glukose, |
| rezirkulierend | 120 | 6 | arteriell | β-HCG | venös | Laktat | arteriell | Antipyrin | venös | Laktat |
| Haupt- phase rezirkulierend | beginnend mit einer 10 minütigen offenen Perfusion mit dem Medikament im maternalem Kreislauf | | | | | | | | | |
| | 130 | 10 | arteriell | Sauerstoff, pH, | | | arteriell | Sauerstoff, pH, | | |
| | 160 | 10 | arteriell | Glukose, Laktat, | venös | | arteriell | Glukose, Laktat, | venös | |
| | 190 | 10 | arteriell | Kreatinin, Anti- | venös | Sauerstoff, | arteriell | Kreatinin, | venös | Sauerstoff, |
| | 220 | 10 | arteriell | pyrin, β-HCG | venös | pH, | arteriell | Antipyrin | venös | pH, |
| | 250 | 10 | arteriell | Nitroglyzerin, | venös | Glukose, | arteriell | Nitroglyzerin, | venös | Glukose, |
| | 310 | 10 | arteriell | Atosiban | venös | Laktat | arteriell | Atosiban | venös | Laktat |
| | 370 | 10 | arteriell | | venös | | arteriell | | venös | |

Tabelle g: Übersicht über die Probenentnahmen während der Perfusion

Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Professor Dr. H.-J. Seewald für die interessante Themenstellung und Betreuung dieser Dissertation bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. E. Schleußner und Frau Dipl. Ing. S. Schröder für die wissenschaftliche und technische Betreuung, sowie für die fortwährende Unterstützung während der Anfertigung der Promotionsarbeit .

Weiterhin möchte ich danken:

Frau Dr. H. Keutel (chemische Betreuung des Plazentalabors) für die wissenschaftliche Beratung

Frau Dr. Jäger vom Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik für die Anfertigung der β -HCG Bestimmungen

Herrn Dr. M. Horn vom Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse

Herrn Prof. Dr. H. Nöschel für die Korrekturlesung und wissenschaftliche Beratung

Der Firma Ferring für die Bestimmung des Atosibangehalts in den Proben

Herrn Dr. W. Michels für das Drucken und Brennen der Dissertation auf CD-Rom

Von ganzem Herzen danke ich meinem Mann und meinen Eltern, Freunden und Freundinnen die mir die Anfertigung der Dissertation erst ermöglichten und mir fortwährend Unterstützung und Zuspruch gewährten.

Lebenslauf

| | |
|----------------------|----------------------------------|
| Name: | Egbe |
| Vorname: | Anne |
| Anschrift: | Dornburger Straße 81, 07743 Jena |
| Geburtsdatum: | 17.09.1975 |
| Geburtsort: | Weimar |
| Familienstand: | verheiratet |
| Staatsangehörigkeit: | deutsch |

Schulbildung:

| | |
|-------------|-----------------------------------|
| 1982 – 1989 | Polytechnische Oberschule, Weimar |
| 1989 – 1996 | Gymnasium, Geretsried |
| 1996 | Abschluss: Allgemeines Abitur |

Studium:

| | |
|-------------|--|
| 1996 – 2003 | Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena |
| 2003 | Abschluss: 3. Staatsexamen |

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Dr. med. Ekkehard Schleußner und Frau Dipl. Ing. Sigrid Schröder,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 20.10.2002

Veröffentlichungen

Publikationen:

Egbe A., Keutel H., S. Schröder, Schleußner E. und Seewald H.-J.: Effekte auf den plazentaren Stoffwechsel und Transfer bei der in-vitro Perfusion humaner Plazentakotyledone mit Nitroglyzerin. In: Tokolyse im neuen Jahrhundert – Bewährtes und Perspektiven. Schleußner E. und Seewald H.-J. (Hrsg.) Shaker Verlag, Aachen (2001) S. 111-116

Schleussner E., Schroeder S., **Beese*** A., Broeders A. und Seewald H.-J.: Effects on placental metabolism and transfer of Atosiban in the dually perfused human term placenta. Placenta (2000) 21: A113

Schleussner E., Schroeder S., **Beese*** A., Seewald H.-J.: Effects of glycerol trinitrate on placental metabolism in the dually perfused human placenta. Placenta (2000) 21: A30

Schleussner E., Schroeder S., **Beese*** A., Broeders A., Seewald H.-J.: Effects on placental metabolism and transfer of atosiban in the dually perfused human placenta. Placenta (2000) 21: A30

Schleussner E., Moeller A., Schroeder S., **Beese*** A., Broeders A., Seewald H.-J.: Effects on placental metabolism and transfer of atosiban in the dually perfused human placenta. Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol (2000) 91: S32

Keutel H., **Egbe A.**, Schröder S., Schleussner E., Seewald H.-J.: Einfluß verschiedener Tokolytika auf den plazentaren Stoffwechsel während der zweiseitigen in vitro Perfusion reifer Plazentakotyledone. Z Geburtshilfe Neonatol (2001) 205: S. 128

Schleussner E., **Egbe A.**, Keutel H, Schroeder S., Seewald H.-J.: Tocolysis and placental function - in vitro effects of four different drugs on placental metabolism in the dually perfused human term placenta. Placenta (2001) 22: A51

* Geburtsname Beese, verheiratet: Egbe

Schleussner E., **Egbe A.**, Keutel H., Schroeder S., Seewald H.-J.: Tocolysis and placental function - in vitro effects of four different drugs on placental metabolism in the dually perfused human term placenta. Placenta (2001) 22: A51

Keutel H., **Egbe A.**, Schröder S., Schleussner E., Seewald H.-J.: Einfluß verschiedener Tokolytika auf den plazentaren Stoffwechsel während der zweiseitigen in vitro Perfusion reifer Plazentakotyledone. Z Geburtshilfe Neonatol (2001) 205: S. 128

Vortrag:

Beese* A., Schröder S., Schleußner E. und Seewald H.-J.: Effekte auf den plazentaren Stoffwechsel und Transfer bei der in-vitro Perfusion humaner Plazentakotyledone mit Nitroglyzerin (GTN). 2. Jenaer Geburtshilfe-Symposium: NO-Donatoren in Geburtshilfe und Frauenheilkunde – Standortbestimmung und Perspektiven. 20. Mai 2000, Jena (Abstractband S. 37-40)

Poster:

Beese* A., Schleussner E., Schroeder S. und Seewald H.-J.: Effects of glycerol trinitrate on placental metabolism in the dually perfused human term placenta. International Nitrate Conference, „Organic Nitrates: State of the Arts“ 25.August 2000, Düsseldorf, Deutschland

Schleussner E., Möller A., Schroeder S., **Beese* A.**, Broeders A. und Seewald H.-J.: Effects on placental metabolism and transfer of Atosiban in the dually perfused human term placenta. EAGO / EBOG 2000, 15th European Congress of Obstetrics and Gynaecology, 21.-24. Juni 2000, Basel, Schweiz

Schleussner E., Schroeder S., **Beese* A.**, Broeders A. und Seewald H.-J.: Effects on placental metabolism and transfer of Atosiban in the dually perfused human term placenta. SIEP / IFPA 2000, 14th Rochester Trophoblast Conference in association with the 6th meeting of the International Federation of Placenta Associations And The Society for the Investigation of Early Pregnancy, 3.-8. Oktober 2000, Rochester, U.S.A.

Schröder S., Schleußner E., Broeders A., Seiler K., **Beese* A.** und Seewald H.-J.: Plazentarer Metabolismus und Transfer des Oxytocinantagonisten Atosiban im doppelseitig perfundierten

humanen Plazentalobulus. 8. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Pränatal- und Geburtsmedizin, 18.5.2000, Nürnberg

Schleussner E., **Egbe A.**, Keutel H., Schroeder S. und Seewald H.-J.: Tocolysis and placental function – in vito effects of four different drugs on placental metabolism in the dually perfused human term placenta. 9th Meeting of European Placenta Group, 19.9.-23.9.2001, Sorrento, Italien

Keutel H, **Egbe A**, Schröder S, Schleussner E, Seewald H.-J. Einfluß verschiedener Tokolytika auf den plazentaren Stoffwechsel während der zweiseitigen in vitro Perfusion reifer Pazentakotyledone. 20. Deutscher Kongress für Perinatale Medizin, 29.11.-1.12. 2001, Berlin

* Geburtsname Beese, verheiratet: Egbe